

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Evaluación técnica de la fermentación de suero lácteo para la
producción de ácido láctico a nivel de laboratorio

Trabajo de graduación en modalidad de trabajo
profesional presentado por Jassier Andrés
Molina Padilla para optar al grado académico de
Licenciado en Ingeniería Química

Guatemala

2024

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



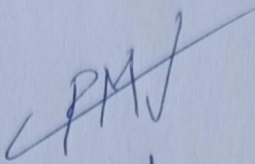
Evaluación técnica de la fermentación de suero lácteo para la
producción de ácido láctico a nivel de laboratorio

Trabajo de graduación en modalidad de trabajo
profesional presentado por Jassier Andrés
Molina Padilla para optar al grado académico de
Licenciado en Ingeniería Química

Guatemala

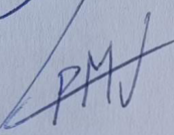
2024

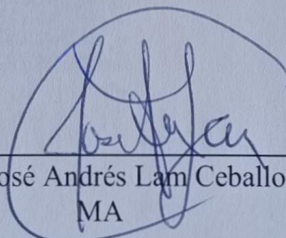
Vo.Bo. Asesor:


(f) _____
Lic. Carlo Roberto Martínez Joachin

Tribunal Examinador:

(f) _____
Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano,
M. Sc.


(f) _____
Lic. Carlo Roberto Martínez Joachin


(f) _____
Ing. José Andrés Lam Ceballos,
MA

Fecha de aprobación: Guatemala, 29 de noviembre de 2024

AGRADECIMIENTOS

A Ingrid Padilla, mi madre, que siempre veló por darme una educación de valor, que me nutrió con el amor que solo una madre puede dar y que a pesar de las dificultades que tuvimos por el fallecimiento de mi padre, no se rindió y por su esfuerzo salimos adelante. Gracias por todo lo que has hecho por mí, nunca lo voy a olvidar.

A Valerie Soberanis, una persona extraordinaria y asombrosa, agradezco enormemente su amistad. Además, le tengo un cariño y amor muy especial. Gracias por tus consejos, palabras de aliento, tu apoyo incondicional, los buenos momentos que compartimos y tu motivación para ser una mejor persona.

A Rocío Villagrán, mi amiga desde la adolescencia, tanto en el colegio como en la universidad nos hemos apoyado en las dificultades, así como también compartido risas y alegrías. Que siempre tendré en la más alta estima.

A Carlo Martínez, catedrático muy querido y asesor de este trabajo de graduación, por su apoyo, aportes y paciencia durante la realización de la experimentación de la tesis. Por los cursos que me impartió, además de la forma dinámica en que lo hizo, decidí orientarme a este tema.

A José Lam, catedrático que me proporcionó mucha ayuda e ideas al momento de la redacción de mi trabajo. Agradezco todos los conocimientos que me enseñó durante la carrera, los considero de amplia utilidad.

Al ingeniero Zambrano, director de mi carrera, siempre se empeñó para que diéramos lo mejor de nosotros, un excelente catedrático y persona admirable, que me apoyó y asistió en diferentes situaciones, le agradezco por ello.

A Alejandro (Alex) Köng, un catedrático que siempre voy a recordar con mucho cariño, que con mucha estima y dedicación nos compartió todo su conocimiento.

A Hugo Oliveros, valoro mucho sus enseñanzas no solo referentes a la carrera, sino que también de vida. Aprendí bastante siendo su estudiante, así como su auxiliar en la universidad, lo aprecio bastante.

A Dorval Carias, catedrático del Departamento de Matemática, que me enseñó con mucho entusiasmo y me motivó a seguir enriqueciendo mis conocimientos y mi pasión por las matemáticas.

A mis amigos, mi grupo de Calabozos y Dragones (Carlos, David y Pablo) y familiares que estuvieron presentes, me motivaron durante la carrera y me proporcionaron su apoyo incondicional.

Este trabajo es resultado de una ardua dedicación y análisis riguroso de los resultados, en el que la experimentación se alargó más de lo esperado. Espero que aporte e inspire futuras investigaciones en la ingeniería química, una carrera versátil y a su vez bella.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE	ii
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	3
IV. MARCO TEÓRICO.....	4
A. Leche y productos lácteos.....	4
1. Proceso general de producción de leche	5
2. Proceso general de producción de productos lácteos.....	6
3. Producción de leche y productos lácteos en Guatemala	8
B. Azúcares presentes en la leche.....	9
C. Ácido láctico	11
1. Formas de sintetizarlo: química o fermentativamente	11
2. Aspectos de la fermentación	12
a) Microorganismo elegido	12
b) Fuentes de carbono.....	13
c) Nutrientes esenciales	13
d) pH, temperatura y agitación	13
e) Subproductos.....	14
3. Tipos de fermentación	14
4. Inhibición por ácido láctico	14
D. Bacteria acidoláctica	15
1. <i>Lactobacillus leichmannii</i>	16
E. Aplicaciones del ácido láctico	16
F. Mercado del ácido láctico a nivel mundial	17
G. Cinética química	18
H. Reactor intermitente local	20

I.	Caracterización fisicoquímica.....	21
J.	Análisis químicos.....	21
	1. Cromatografía líquida de alta resolución.....	21
	2. Cuantificación de población microbiana	22
K.	<i>Buffer</i> químico	22
L.	Berkeley Madonna	23
M.	Ekomilk.....	24
V.	ANTECEDENTES.....	25
VI.	METODOLOGÍA	27
	A. Primera parte: caracterización del lactosuero	27
	1. Porcentaje de humedad	27
	2. Porcentaje de cenizas	28
	3. Cuantificación de proteínas, grasas y densidad	28
	4. Cuantificación de azúcares	28
	5. Cuantificación de pH	29
	B. Segunda parte: propagación de <i>Lactobacillus leichmannii</i>	30
	1. Preparación del medio	30
	2. Inoculación.....	31
	C. Tercera parte: fermentación del lactosuero.....	32
	1. Preparación de lactosuero líquido.....	32
	2. Preparación de <i>buffer</i> de ftalato de potasio.....	33
	3. Preparación del medio fermentativo con lactosuero.....	33
	4. Inoculación del medio fermentativo con lactosuero y adición de <i>buffer</i>	34
	5. Fermentación variando uso de <i>buffer</i> , dejando fija la agitación	34
	6. Fermentación variando agitación, utilizando o no <i>buffer</i>	34
	7. Análisis de muestras para cuantificar azúcares presentes.....	35
	8. Análisis de muestras para cuantificar ácido láctico presente.....	35
	9. Análisis de muestras para cuantificar biomasa presente.....	36
	D. Cuarta parte: modelo cinético de la fermentación	37
	1. Generación de modelo cinético de fermentación, para azúcares consumidos, ácido láctico producido y desarrollo de biomasa.....	37
VII.	RESULTADOS.....	38
VIII.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	54

IX.	CONCLUSIONES	66
X.	RECOMENDACIONES.....	67
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	68
XII.	ANEXOS	71
A.	Datos originales.....	71
B.	Datos calculados.....	83
C.	Ecuaciones empleadas para los cálculos	89
D.	Cálculos de muestra	93
E.	Análisis de error	97
F.	Cromatogramas	100
G.	Ilustraciones	105
XIII.	GLOSARIO.....	116

LISTA DE CUADROS

Cuadro A: Materiales, equipos y reactivos empleados para la primera parte	27
Cuadro B: Materiales, equipos y reactivos empleados para la segunda parte	30
Cuadro C: Materiales, equipos y reactivos empleados para la tercera parte.....	32
Cuadro 1: Porcentaje de humedad del lactosuero sólido.....	38
Cuadro 2: Porcentaje de cenizas del lactosuero sólido.....	38
Cuadro 3: Concentración peso-volumen de la solución de lactosuero a emplear en la fermentación	39
Cuadro 4: Densidad de la solución de lactosuero 10.001 % m/v.....	39
Cuadro 5: pH de la solución de lactosuero al 10.001 % m/v medido a una temperatura de 38 °C	40
Cuadro 6: Contenido de grasas en la solución de lactosuero 10.001 % m/v	40
Cuadro 7: Contenido de proteínas en la solución de lactosuero 10.001 % m/v.....	41
Cuadro 8: Contenido de lactosa en la solución de lactosuero 10.001 % m/v	41
Cuadro 9: Contenido de ácido láctico en la solución de lactosuero 10.001 % m/v.....	42
Cuadro 10: Relación estequiométrica teórica ácido láctico/lactosa basada en la reacción de la fermentación de la solución de lactosuero.....	42
Cuadro 11: Rendimiento experimental de la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v para la producción de ácido láctico utilizando <i>Lactobacillus leichmannii</i>	49
Cuadro 12: Pesos de los beakers de 100 mL individuales, con la muestra de lactosuero y el volumen de aforo para la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	71
Cuadro 13: pH de la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió.....	71
Cuadro 14: pH de la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió.....	71
Cuadro 15: pH de la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió.....	71
Cuadro 16: pH de la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió.....	71
Cuadro 17: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v .	72
Cuadro 18: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v .	72
Cuadro 19: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v .	72
Cuadro 20: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v .	72
Cuadro 21: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v	72
Cuadro 22: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v	73
Cuadro 23: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v	73

Cuadro 24: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v	73
Cuadro 25: Pesos de los beakers de 50 mL individuales y con la muestra de lactosuero húmeda y seca para la medición de la humedad del lactosuero en polvo	73
Cuadro 26: Pesos de los crisoles individuales, con la muestra de lactosuero y la muestra calcinada para la medición de la humedad del lactosuero en polvo	73
Cuadro 27: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 1	74
Cuadro 28: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 1	74
Cuadro 29: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 2	75
Cuadro 30: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 2	75
Cuadro 31: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 3	76
Cuadro 32: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – réplica 3	76
Cuadro 33: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	77
Cuadro 34: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	77
Cuadro 35: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	77
Cuadro 36: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	78
Cuadro 37: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	78
Cuadro 38: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	78
Cuadro 39: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	78
Cuadro 40: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	78
Cuadro 41: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	79
Cuadro 42: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	79
Cuadro 43: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	79
Cuadro 44: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	80

Cuadro 45: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	80
Cuadro 46: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 1	80
Cuadro 47: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	80
Cuadro 48: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 2	81
Cuadro 49: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	81
Cuadro 50: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con <i>buffer</i> – réplica 3	81
Cuadro 51: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – Madre	81
Cuadro 52: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin <i>buffer</i> – Madre	81
Cuadro 53: Masas calculadas de lactosuero en polvo para la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 54: Estadística de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 55: Medias de pH de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 56: Estadística de las mediciones de pH de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 57: Medias del porcentaje de proteína de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 58: Estadística de las mediciones del porcentaje de proteína de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	82
Cuadro 59: Medias del porcentaje de grasa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	83
Cuadro 60: Estadística de las mediciones del porcentaje de grasa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	83
Cuadro 61: Medias de la densidad de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v ..	83
Cuadro 62: Estadística de las mediciones de la densidad de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	83
Cuadro 63: Medias del contenido de lactosa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	83
Cuadro 64: Estadística de las mediciones del contenido de lactosa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	83
Cuadro 65: Medias del contenido de ácido láctico de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	84
Cuadro 66: Estadística de las mediciones del contenido de ácido láctico de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v	84

Cuadro 67: Masas de lactosuero en polvo húmedo y seco para la determinación del porcentaje de humedad en base seca y húmeda.....	84
Cuadro 68: Estadística de la determinación del porcentaje de humedad en base seca y húmeda ...	84
Cuadro 69: Masas de lactosuero en polvo húmedo y seco para la determinación del porcentaje de cenizas.....	84
Cuadro 70: Estadística de la determinación del porcentaje de cenizas	85
Cuadro 71: Relación estequiométrica teórica en la reacción de la fermentación.....	85
Cuadro 72: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de <i>buffer</i> – corrida 1	85
Cuadro 73: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de <i>buffer</i> – corrida 2.....	86
Cuadro 74: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de <i>buffer</i> – corrida 3.....	86
Cuadro 75: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y con uso de <i>buffer</i> de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico.....	87
Cuadro 76: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 50 rpm de agitación y con uso de <i>buffer</i> de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico.....	88
Cuadro 77: Concentración de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 150 rpm de agitación y con uso de <i>buffer</i> de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico.....	89
Cuadro 78: Rendimiento de la experimentación basado en los resultados obtenidos de la fermentación de la solución de lactosuero 10 % m/v a 50 rpm y empleando <i>buffer</i>	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de proceso para el aseguramiento de la calidad de la leche en la planta procesadora de lácteos.....	6
Figura 2. Diagrama general del proceso de producción de queso fresco.....	7
Figura 3. Diagrama general del proceso de producción de crema.....	8
Figura 4. Comercio centroamericano de leche y productos lácteos – al 30 de junio de 2021	9
Figura 5. Enlace O-glicosídico en una molécula de maltosa.....	10
Figura 6. Estructura química de la molécula de lactosa.....	10
Figura 7. Isómeros de la lactosa.....	11
Figura 8. Ruta homofermentativa (izquierda) y heterofermentativa (derecha) de la glucosa.....	12
Figura 9. Familias y géneros de las bacterias acidolácticas – Especies utilizadas para la fermentación de vinos.....	15
Figura 10. Aplicaciones del ácido láctico en diferentes ámbitos.....	17
Figura 11. Pronóstico del crecimiento del mercado mundial de ácido láctico.....	18
Figura 12. Aplicación del ácido láctico en diferentes industrias.....	18
Figura 13. Ejemplo de funcionamiento del software Berkeley Madonna.....	24
Figura 14. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 1 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin <i>buffer</i> a 100 rpm de agitación y 38 °C.....	43
Figura 15. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 2 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin <i>buffer</i> a 100 rpm de agitación y 38 °C.....	44
Figura 16. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 3 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin <i>buffer</i> a 100 rpm de agitación y 38 °C.....	45
Figura 17. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 100 rpm de agitación y 38 °C.....	46
Figura 18. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 50 rpm de agitación y 38 °C.....	47
Figura 19. Curva de crecimiento de <i>lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 150 rpm de agitación y 38 °C.....	48
Figura 20. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales de crecimiento de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 50 rpm de agitación.....	53
Figura 21. Curva de calibración en HPLC de la lactosa empleada para cuantificación de lactosa en las fermentaciones.....	100

Figura 22. Curva de calibración en HPLC del ácido láctico empleada para cuantificación de lactosa en las fermentaciones.....	101
Figura 23. Cromatograma de la medición de lactosa para la caracterización de la solución de lactosuero al 10 % m/v.....	102
Figura 24. Cromatograma de la medición de lactosa para la fermentación empleando <i>buffer</i> y a una velocidad de agitación de 100 rpm para 72 horas.....	103
Figura 25. Cromatograma de la medición de ácido láctico para la fermentación empleando <i>buffer</i> y a una velocidad de agitación de 100 rpm para 72 horas.....	104
Figura 26. Solución de lactosuero al 10 % m/v.....	105
Figura 27. Solución de lactosuero al 10 % m/v desproteinizada y filtrada.....	105
Figura 28. Caja Petri con <i>Lactobacillus leichmannii</i> incubado.....	106
Figura 29. Medición del pH de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclado con el <i>buffer</i> de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico.....	106
Figura 30. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el <i>buffer</i> y un tiempo de fermentación de 2 horas.....	107
Figura 31. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el <i>buffer</i> y un tiempo de fermentación de 24 horas.....	107
Figura 32. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el <i>buffer</i> y un tiempo de fermentación de 72 horas.....	108
Figura 33. Biomasa generada en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclada con <i>buffer</i> y un tiempo de 24 horas.....	108
Figura 34. Biomasa generada en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclada con <i>buffer</i> y un tiempo de 72 horas.....	109
Figura 35. Agar MRS marca Scharlau empleado para el cultivo del lactobacilo.....	109
Figura 36. Ácido clorhídrico fumante al 37% marca Supelco empleado para la preparación del <i>buffer</i>	110
Figura 37. Ftalato ácido de potasio marca Supelco empleado para la preparación del <i>buffer</i>	110
Figura 38. Balanza analítica marca OHAUS empleada en la experimentación.....	111
Figura 39. Ekomilk marca BULTEH empleado para la caracterización del lactosuero.....	111
Figura 40. Mufla marca Thermo Scientific empleada para la caracterización del lactosuero.....	112
Figura 41. Horno de secado por convección marca VWR empleado para la experimentación.....	112
Figura 42. Autoclave marca Tuttnauer empleada para la experimentación.....	113
Figura 43. Agitadora marca Lab. Companion empleada para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m /v.....	113
Figura 44. Centrífuga marca Fisher Scientific empleada para la experimentación.....	114
Figura 45. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales de crecimiento de <i>Lactobacillus leichmannii</i> , consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 50 rpm de agitación empleando $Q_p = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X$	114
Figura 46. Diagrama de bloques y balance de masa para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con <i>buffer</i> a 50 rpm de agitación.....	115

RESUMEN

Este trabajo de graduación tiene como objetivo realizar un estudio técnico de la fermentación de lactosuero empleando como microorganismo fermentador *Lactobacillus leichmannii* para la producción de ácido láctico. Primero se caracterizó el lactosuero tanto en su forma sólida como en una solución al 10 % m/v. Teniendo como parámetros el porcentaje de humedad (2.102 % m/m) y cenizas (30.789 % m/m) para el polvo; para la solución se midió la densidad (1.0210 g/mL), el pH (5.90), el porcentaje de grasa (0.00 % m/v) y proteína (0.13 % m/v); el contenido de lactosa (8.38205 % m/v) y ácido láctico (0.19912 % m/v) inicial. Definiendo como relación estequiométrica teórica entre producto y reactivo un valor de 1.076, que indica que por cada gramo de lactosa fermentado se obtienen 1.076 gramos de ácido láctico. Posteriormente se realizaron fermentaciones a 38 °C variando condiciones como la agitación a 50, 100 y 150 revoluciones por minuto y el empleo de un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Con el fin de determinar las condiciones que maximizaban el rendimiento de la fermentación, que fueron a una agitación a 50 rpm y utilizando el *buffer*. Obteniendo un rendimiento experimental del 10.474% que indica que de cada 100 gramos teóricos de ácido láctico que se pueden producir, realmente solo se pueden obtener 10.474 gramos experimentalmente a las condiciones establecidas. Finalmente, se obtuvo un modelo cinético de la fermentación basado en los datos experimentales de los resultados de la fermentación indicada anteriormente. Para poder predecir el comportamiento de las especies involucradas en la reacción con el tiempo, que son el consumo de lactosa, el crecimiento de la cepa *Lactobacillus leichmannii* y la generación de ácido láctico en el medio fermentativo. Las ecuaciones planteadas se observan en el apartado de resultados, siendo las Ecuaciones R4, R5 y R6 respectivamente, que se graficaron en la Figura 20. Validando el ajuste de datos que realizan las ecuaciones de la cinética, se obtuvo un error medio cuadrático para la curva de lactosa de 1.88275, para la curva del crecimiento de la biomasa de 0.51547 y para la generación de ácido láctico de 0.55300. Este modelo es beneficioso como una herramienta para reconocer tanto los logros como las restricciones del sistema en las condiciones en las que se llevó a cabo. Así, facilita la exploración de posibles oportunidades de mejora que se pueden implementar en futuras investigaciones, así como la posibilidad de escalar el proceso a nivel industrial.

I. INTRODUCCIÓN

La generación de residuos industriales, como el lactosuero en la industria láctea, plantea una problemática ambiental debido a su descarga sin tratamiento previo, lo que afecta la calidad del agua y promueve el crecimiento bacteriano. Sin embargo, la fermentación del lactosuero puede ser una solución viable. Esta ofrece ventajas significativas frente a los métodos químicos de síntesis, en los que se ve involucrado el cianuro de hidrógeno para hacerlo reaccionar con acetaldehído y obtener lactonitrilo. Siendo una reacción que tiene alto riesgo para la salud, por la toxicidad de los reactivos involucrados, además de ser un proceso nocivo para el medio ambiente (Datta et al., 1995). Por lo que fermentar azúcares, como la lactosa, para producir ácido láctico es un proceso más sostenible. Los lactobacilos, especialmente los clasificados como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), son microorganismos clave en este proceso, ya que no solo convierten eficientemente azúcares en ácido láctico, sino que también mejoran la calidad del producto final al aportar propiedades probióticas y prolongar la vida útil (König et al., 2017).

En este contexto, el ácido láctico, un producto de la fermentación láctica, tiene diversas aplicaciones en industrias como alimentos, farmacia, cosméticos y química. En la industria alimentaria, se utiliza como aditivo para regular el pH, mejorar la calidad y sabor, y como conservante. En la industria farmacéutica, se emplea en soluciones intravenosas y en la fabricación de productos médicos. En la industria cosmética, se utiliza para regular el pH y como humectante. Además, el ácido láctico tiene aplicaciones en la industria química como agente neutralizante, solvente y precursor de compuestos químicos. También se utiliza en la producción de ácido poliláctico (PLA), un plástico biodegradable utilizado en diversos productos. Estas aplicaciones demuestran el potencial del ácido láctico como una alternativa valiosa para aprovechar el lactosuero y reducir la generación de residuos industriales (Martínez, 2014; Wee, 2006).

Este proyecto busca evaluar la fermentación de lactosuero a nivel de laboratorio para la producción de ácido láctico utilizando el microorganismo *Lactobacillus leichmannii*. El estudio se realizará a diferentes condiciones de proceso. Determinando el efecto que tiene distintas velocidades de agitación y la regulación del pH mediante la utilización de un *buffer*. Además, de generar un modelo cinético de la fermentación para pronosticar el comportamiento de las especies involucradas en la fermentación. Este modelo permitirá analizar los mecanismos implicados en la reacción, así como ser una herramienta para el diseño y control de los procesos que ocurren en la producción de ácido láctico mediante fermentación, así como poder escalar el proceso a nivel industrial.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Evaluar técnicamente la producción de ácido láctico a nivel laboratorio utilizando *Lactobacillus leichmannii*.

B. Objetivos específicos

- Caracterizar el suero láctico, cuantificando porcentaje de humedad y cenizas, densidad, pH, cantidad de grasa, proteína y lactosa en la muestra, para determinar el rendimiento basado en la reacción de la fermentación estequiométrica.
- Cuantificar la concentración de ácido láctico y lactosa en sistemas fermentativos con variaciones de agitación y el uso de *buffer* para determinar las condiciones que maximizan los rendimientos de la reacción.
- Obtener el modelo cinético de la fermentación de suero láctico usando *Lactobacillus leichmannii* para predecir el comportamiento de las concentraciones de las especies que participan en la fermentación con el tiempo.

III. JUSTIFICACIÓN

El aumento de la preocupación por cuidar el ambiente ha promovido la disminución de generación de residuos de los procesos industriales, entre ellos, los de la elaboración de alimentos. En la industria láctea, un residuo común observado en las aguas residuales del proceso es el lactosuero, presentando altas cantidades. En Guatemala se producen alrededor de 511 millones de litros de leche anualmente. También, por cada litro de leche empleado para la producción de sus derivados se produce entre 0.5 a 0.7 litros de lactosuero, generando residuos líquidos que terminan en el desagüe. Este subproducto es obtenido de los procesos de cuaje, estrujado y desuerado, que hay en la producción de quesos (Salinas & Pantaleón, 2022).

El lactosuero no es sometido a un tratamiento previo al momento de verterlo a las aguas residuales, aumentando la demanda química y bioquímica de oxígeno, contenido de grasas, sólidos suspendidos, materia flotante y modificando su color. En presencia de coliformes fecales, el lactosuero permite crecimiento bacteriano, al suplementar los requerimientos químicos necesarios para su proliferación (Martínez, 2014).

Ahora bien, el lactosuero es una fuente considerable de lactosa. Como solución a desechar este subproducto del sector lácteo, se puede utilizar como materia prima para la producción de ácido láctico. La síntesis de este compuesto se logra mediante la fermentación de la lactosa, utilizando bacterias acidolácticas. El proceso no requiere de un pretratamiento exhaustivo del lactosuero, puesto que únicamente debe someterse a un tratamiento térmico para la eliminación de las proteínas presentes (Cabra & Rodríguez, 2006). Este componente es de alto interés a nivel industrial, especialmente en los procesos que involucran alimentos, la manufactura de cosméticos, fármacos y un sustrato para la síntesis de diversos productos, entre ellos el ácido poliláctico; haciendo que esta alternativa sea viable económica y ambientalmente (Wee, 2006). Por ello, este trabajo busca evaluar técnicamente la producción del ácido láctico al fermentar el lactosuero, utilizando *Lactobacillus leichmannii*.

Se seleccionó la cepa *Lactobacillus leichmannii* debido a la capacidad homofermentativa que esta posee. Permitiendo una conversión más eficiente de lactosa a ácido láctico, minimizando la generación de subproductos. De igual forma, tiene resistencia a variaciones de pH y afinidad por sustratos lácteos. Además, se optó por fermentar con una cepa que no se ha estudiado en su totalidad frente a reacciones de fermentación, a diferencia de cepas como *Lactobacillus lactis* o *Lactobacillus bulgaricus* (Weiss et al., 1983). Siendo una opción viable para evaluar el rendimiento en las condiciones experimentales planteadas en este estudio.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Leche y productos lácteos

La leche es considerada un alimento completo, por su alto contenido de nutrientes esenciales, proporciona un alto contenido de energía alimenticia y es fuente de azúcares como lactosa, proteínas y grasas. Además, contribuye con la ingestión de calcio, magnesio, vitamina B12, riboflavina, ácido fólico, entre otros. La leche de origen animal se ve influenciada por la especie y características del animal lechero el entorno físico en el que se desarrolle y la estación del año, modificando el color, sabor y composición de la leche. Dos animales lecheros de gran importancia son la vaca y la cabra. La leche de vaca tiene un contenido del 3 al 4 % de grasas, 3.5 % de proteínas y 5 % de lactosa. Sin embargo, la composición química, es decir, los nutrientes que tiene varían según la raza de la vaca. La leche de cabra tiene una composición similar a la leche vacuna, pero es menos frecuente su consumo. En general se utiliza para la fabricación de productos lácteos como lo es el queso y yogur. Otras leches provienen de búfalo, camello, oveja, yak y equino (FAO, 2022).

En general, la leche con calidad óptima para su consumo no debe presentar un mal sabor, olor ni color. No debe de haber sólidos como residuos o sedimentos, su contenido microbiano debe de ser leve, tampoco contener sustancias químicas ajenas a la composición normal de la leche; por último, la acidez también debe de ser la adecuada. De estos factores depende que la leche sea una materia prima útil para la fabricación de los productos lácteos. Es necesario el uso de buenas prácticas de higiene durante el proceso de producción de la leche, desde que las vacas son ordeñadas hasta que es procesada y distribuida para su venta (FAO, 2022). Las pruebas que se realizan a la leche incluyen:

- Cantidad: medida en porcentaje de volumen o peso.
- Características organolépticas: sabor, olor y aspecto.
- Características de composición: grasa, proteínas, azúcares y materia sólida.
- Características fisicoquímicas
- Características higiénicas: condiciones de higiene y limpieza.
- Adulteración: agua, sólidos añadidos y conservantes.
- Residuos de medicamentos

(FAO, 2022)

Los productos lácteos son aquellos que son obtenidos mediante cualquier elaboración de la leche, teniendo aditivos alimenticios e ingredientes necesarios en su composición para su producción. Los productos lácteos más comunes son:

- Leche líquida: principal producto lácteo, siendo el más comercializado a nivel mundial. Entre sus tipos se encuentra la leche entera, desnatada, semi y totalmente descremada, semi y totalmente deslactosada, leche pasteurizada y de larga conservación (UHT).
- Leche fermentada: mediante fermentación utilizando microorganismos,

generalmente *Lactobacillus*, se obtiene un mayor grado de acidez, siendo el ejemplo más común el yogur.

- Quesos: estos se obtienen al coagular la caseína, que es la proteína principal de la leche y remover el producto del suero lácteo. Los tipos van desde quesos duros, semiduros hasta maduros o no madurados. Estos quesos dependerán de las características de la leche, al igual que el proceso de producción e incluso los microorganismos utilizados en ello.
- Mantequilla: productos que consisten en su mayoría de las grasas de la leche. Son producidos al batir la nata o la leche entera agria.
- Leche condensada: al remover parcialmente el contenido de agua se obtiene este producto. Se requiere de un tratamiento térmico para obtener la consistencia deseada, posteriormente puede ser o no endulzada.
- Leche evaporada: también se remueve parte del agua que constituye la leche, mediante tratamiento térmico, a diferencia que es menos espesa que la leche condensada.
- Leche en polvo: se obtiene al someter la leche a un proceso de deshidratación.
- Nata: es la parte de la leche en la que se encuentra la mayor cantidad de grasas, obtenida al centrifugar o descremar la leche. Entre sus variedades se encuentra la nata recombinada, reconstituida, preparada, líquida, para batir, fermentada y acidificada.
- Sueros: este es el subproducto líquido que se obtiene en el proceso de fabricación de quesos, después de la cuajada. Se utiliza para preparar queso de suero, bebidas a base de suero normal y fermentado. Existen dos tipos de suero, el suero dulce obtenido en la cuajada del queso y el suero ácido, obtenido de una coagulación ácida de los quesos.
- Caseína: siendo la principal proteína de la leche, es usado como un ingrediente en diversas elaboraciones, como lo son quesos, productos de repostería, pinturas y pegamentos.

(FAO, 2022)

1. Proceso general de producción de leche

El proceso de producción de la leche inicia desde la alimentación del ganado, obteniendo la leche cruda al momento de ordeñarlo. Esta leche es vertida en tambos lecheros y es transportado a las instalaciones de la empresa productora. Esta leche es filtrada, eliminando cualquier impureza sólida. Posteriormente, se somete a un proceso de desnatado, precalentando la leche a 38 °C y centrifugándola para remover la nata. Luego se realiza la pasteurización, calentándola a una temperatura alrededor de 70 °C, aproximadamente por 20 segundos, mediante vapor de agua caliente, logrando la destrucción de bacterias patógenas y reducir a flora banal de la leche, sin afectar las propiedades fisicoquímicas. Después de ser pasteurizada, la leche ya está lista para ser envasada y comercializarla o bien, ser empleada para el proceso de producción de algún producto lácteo.

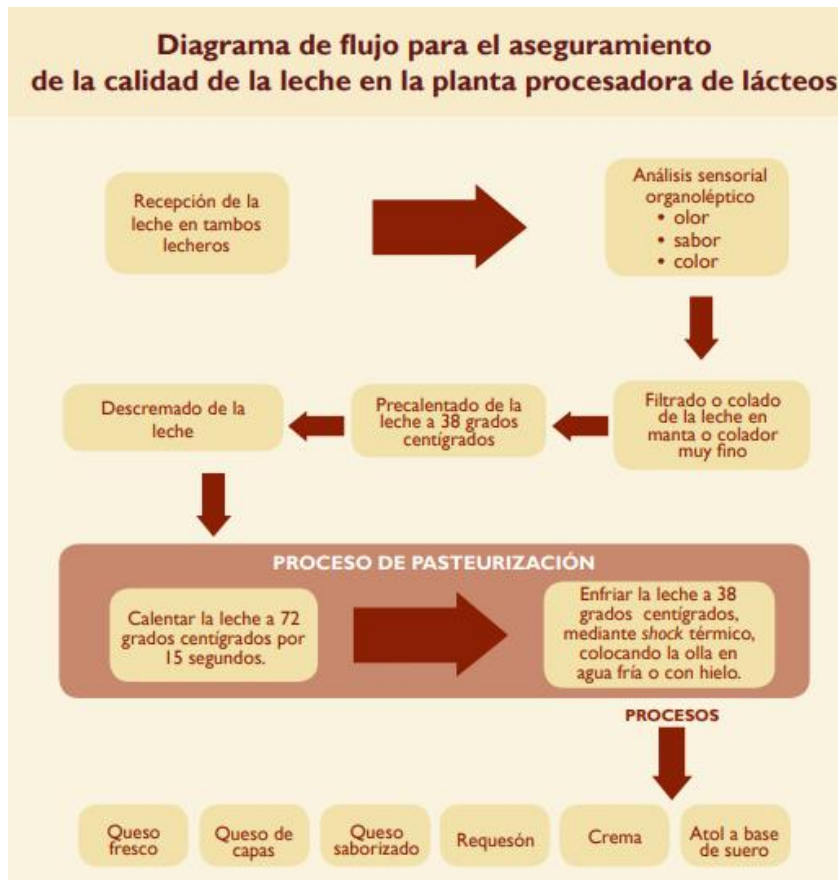


Figura 1. Diagrama de proceso para el aseguramiento de la calidad de la leche en la planta procesadora de lácteos (FAO, 2011)

2. Proceso general de producción de productos lácteos

El proceso de producción de los derivados de la leche es variado. Sin embargo, todos requieren el procesamiento de la leche, específicamente por la pasteurización para la remoción de patógenos. Se ilustran a continuación el proceso de producción para crema y queso fresco.



Figura 2. Diagrama general del proceso de producción de queso fresco (FAO, 2011)

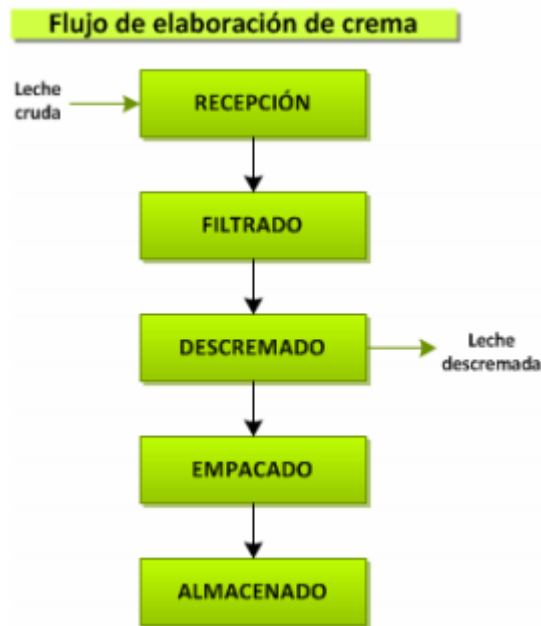


Figura 3. Diagrama general del proceso de producción de crema (FAO, 2011)

3. Producción de leche y productos lácteos en Guatemala

El sector lácteo de Centroamérica posee alrededor de 250 mil productores, generando 1.2 millones de toneladas de leche al año, viéndose reflejado en \$400 millones en divisas (Pérez, 2021). En Guatemala, este sector se ve afectado por diversos retos. Sin embargo, es un pilar importante de la economía guatemalteca, puesto que origina aproximadamente 56 mil empleos directos y 168 mil empleos indirectos, según la cámara de industria (Salinas & Pantaleón, 2022). La producción en Guatemala gira en torno a 1.4 millones de litros diarios de leche, siendo un estimado anual de 511 millones de litros. Sin embargo, Guatemala tiene uno de los consumos de leche y producción más bajos de Centroamérica y Latinoamérica, puesto que, según la OMS, una persona debe consumir en promedio 160 litros de leche al año, consumiendo los guatemaltecos entre 55 y 60 litros por año (MINECO, 2019; Salinas & Pantaleón, 2022).

El mercado de la leche ha ido en aumento en Centroamérica, incluyendo levemente a Guatemala. Se vio un aumento del 7 % en el comercio de productos lácteos registrado en 2020 al compararlo con las cifras del 2019 (CAD, 2021). Tanto el MAGA como el Consejo Agropecuario Centroamericano buscan establecer y mejorar las normativas al igual que promover las buenas prácticas de producción, haciendo énfasis en el control de calidad y de remoción de patógenos dañinos para la seguridad del consumidor. Siendo esta una gran oportunidad para el desarrollo de la economía del país, para poder comercializar competitivamente a nivel mundial (Pérez, 2021).

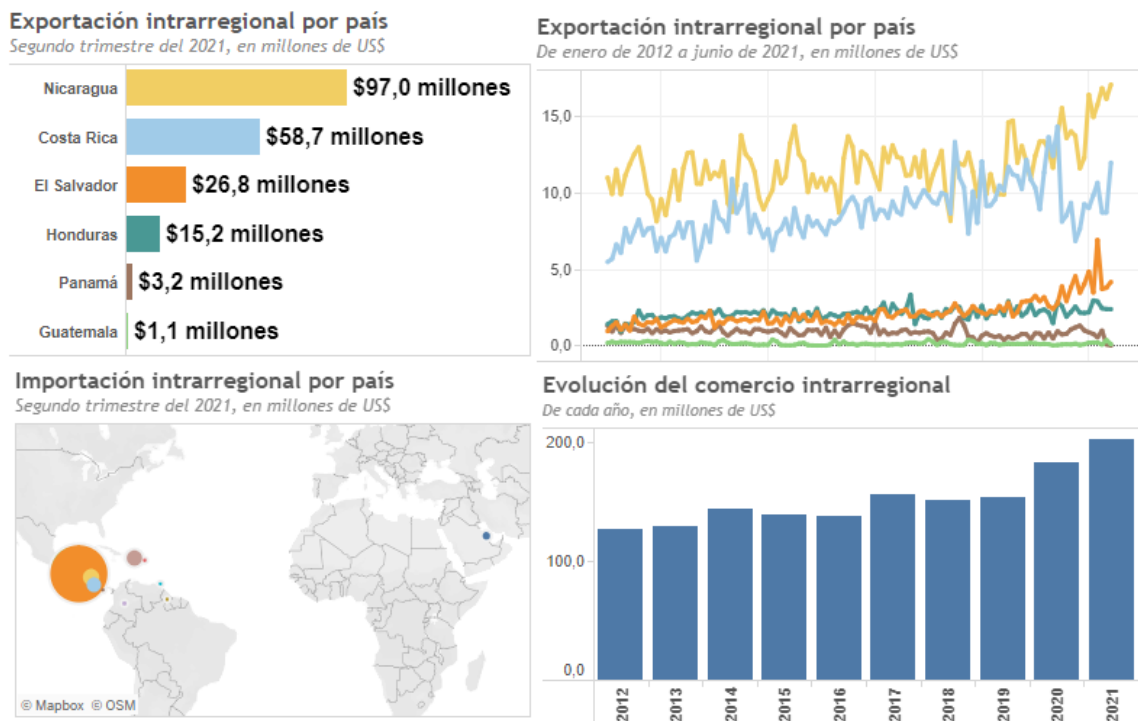


Figura 4. Comercio centroamericano de leche y productos lácteos – al 30 de junio de 2021 (CAD, 2021)

B. Azúcares presentes en la leche

El azúcar principal que se encuentra en la leche de forma natural es la lactosa. Industrialmente se puede añadir sacarosa a la leche para añadirle un sabor dulce. La lactosa es un disacárido, conformado por una molécula de glucosa y otra de galactosa. La unión de estos dos monosacáridos se logra mediante un enlace covalente O-glicosídico, este se obtiene cuando el grupo hidroxilo de una molécula de azúcar en forma cíclica reacciona con el carbono anomérico de otra molécula. La lactosa es un azúcar reductor, posee un grupo carbonilo libre que se puede oxidar, pasando a ser un grupo carboxilo. Esto se ejemplifica en la prueba de Benedict, en la que se utilizan iones de cobre (II) para oxidar los azúcares reductores y así identificar si la muestra analizada tiene o no presencia de estos (Lehninger & Cox, 2012).

La lactosa de igual forma es de interés médico, puesto que las personas pueden presentar intolerancia a la lactosa. Las personas con este padecimiento al ingerir alimentos que contengan glucosa pueden presentar síntomas como hinchazón abdominal, diarrea, gases, náuseas, dolor de abdomen, ruidos estomacales y vómitos. Los síntomas pueden empeorar según el contenido de lactosa que se haya ingerido. La intolerancia se produce debido a que el organismo de la persona absorbe ineficientemente la lactosa. Su intestino delgado no produce suficiente lactasa, que es la enzima que degrada la lactosa a sus monosacáridos constituyentes. Por lo tanto, la lactosa que no se descompone pasa al colon, donde las bacterias alojadas en él la descomponen produciendo fluidos y gases, causando los síntomas (NIDDK, 2022).

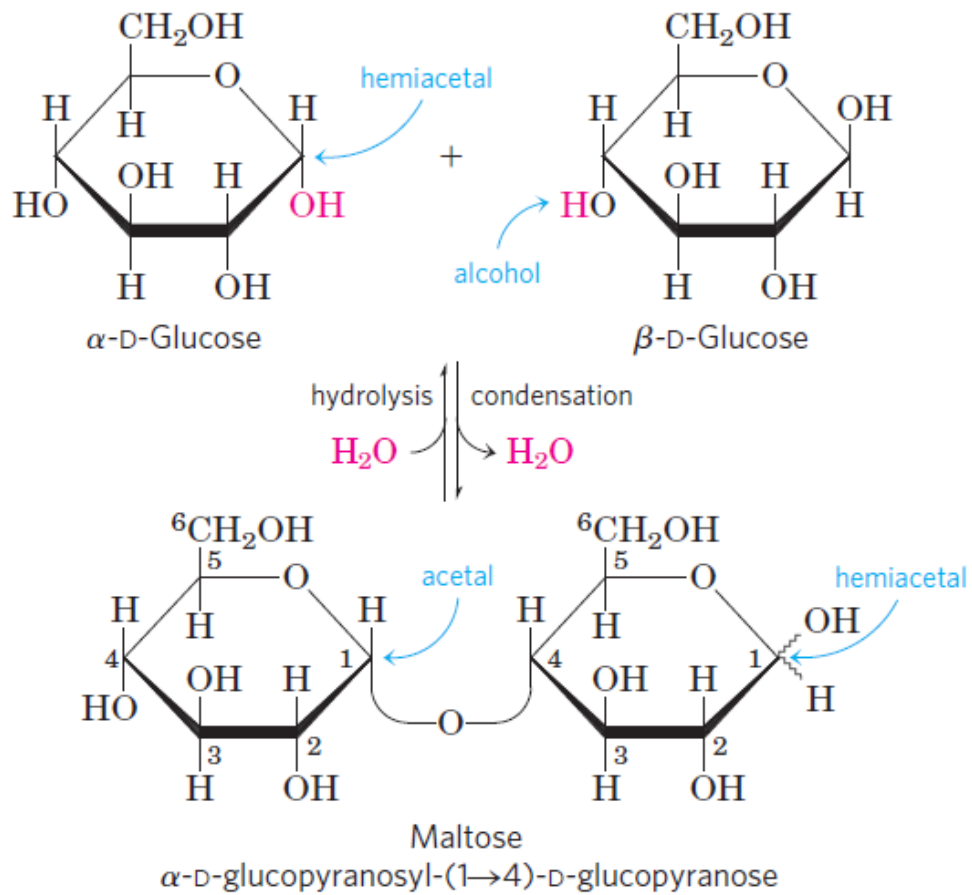


Figura 5. Enlace O-glicosídico en una molécula de maltosa (Lehninger & Cox, 2012)

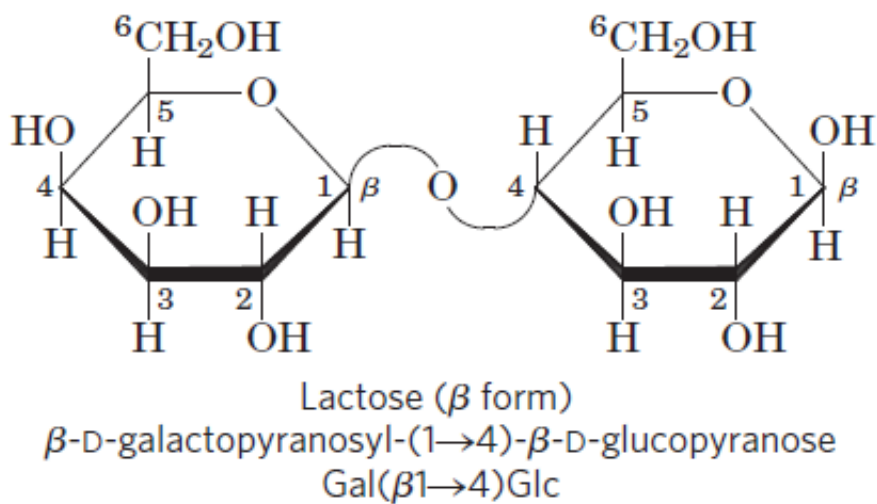


Figura 6. Estructura química de la molécula de lactosa (Lehninger & Cox, 2012)

C. Ácido láctico

El ácido láctico es una molécula orgánica, perteneciente a los ácidos carboxílicos. En el ser humano, puede ser hallado en los músculos, la sangre y otros órganos del cuerpo. Se encuentra en estado líquido, presentando una coloración amarilla y tiene un sabor parcialmente ácido. Este compuesto fue descubierto en 1780 por Scheele, un químico sueco al aislarlo de la leche agria. En 1847 Blonodeaur lo identificó como un producto proveniente de una fermentación, estableciendo en 1881 Littleton un proceso de producción a nivel industrial (Grupo Pochteca, 2022).

1. Formas de sintetizarlo: química o fermentativamente

Las rutas mediante una síntesis química tienen la desventaja de que producen una mezcla racémica de los isómeros de la lactosa, que son L(+)-lactosa y D(-)-lactosa. Entre las rutas se encuentra la síntesis de ácido láctico mediante lactonitrilo, que es un subproducto formado de la reacción para obtener acetonitrilo. El lactonitrilo se obtiene al añadir en medio básico un catalizador de cianuro de hidrógeno a acetaldehído. Siendo una síntesis de alto cuidado, por el uso del cianuro de hidrógeno, que resulta altamente peligroso para la salud. Otras posibles rutas para seguir para sintetizar el ácido láctico son: degradación catalizada en medio básico de azúcares, oxidación de polipropilenglicol, oxidación ácido-nítrica de propileno, reaccionar acetaldehído, monóxido de carbono y agua a alta presión y temperatura, entre otras. Sin embargo, ninguna de estas rutas ha demostrado ser viable económica y técnicamente eficiente (Datta et al., 1995).

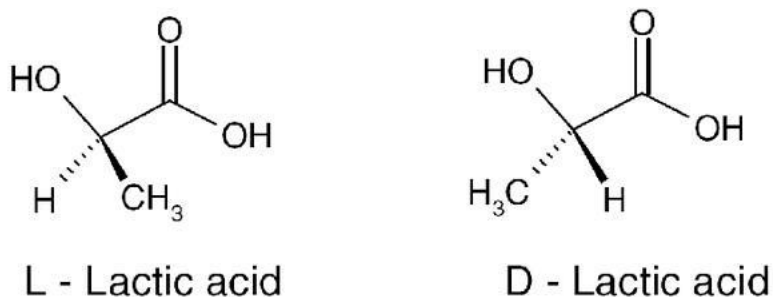


Figura 7. Isómeros de la lactosa (Lehninger & Cox, 2012)

En cuanto a la síntesis mediante vía fermentativa, es posible obtener un isómero únicamente de ácido láctico o bien la mezcla de ambos si se tuviera la necesidad. Esto dependerá del microorganismo que sea seleccionado para llevar a cabo la fermentación. En general, hay dos rutas posibles de fermentación, la homofermentación láctica, en la que solo se sintetiza en su mayoría un único producto, cualquiera de los dos isómeros; o bien, la heterofermentación láctica, en la que se obtienen otros subproductos como dióxido de carbono, etanol, ácido glucónico, entre otros. Además de depender del microorganismo utilizado, las condiciones en las que se lleve a cabo la experimentación también determinarán el tipo de trayectoria a seguir (Wee et al., 2006).

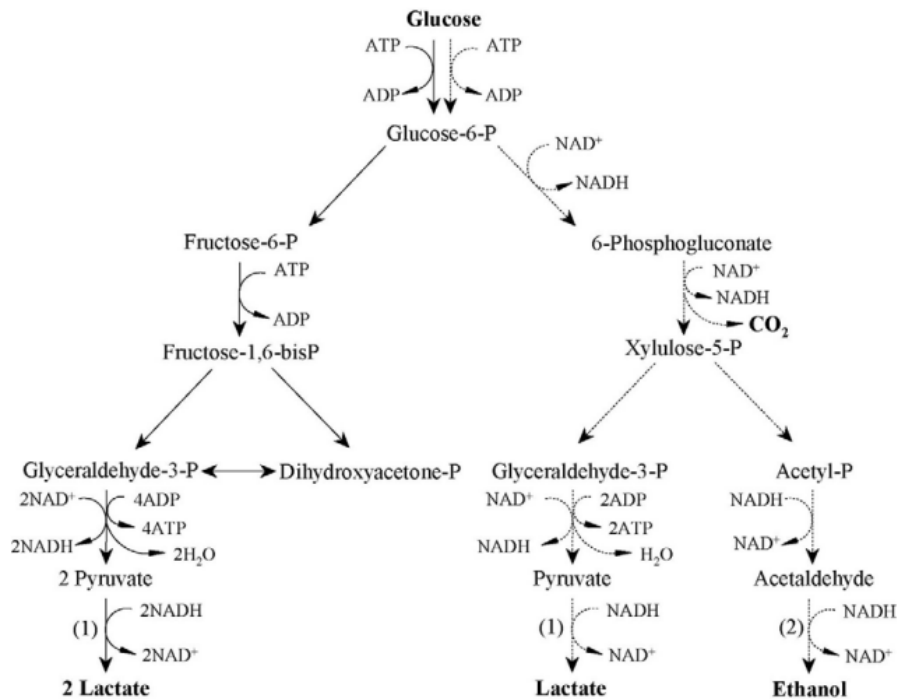


Figura 8. Ruta homofermentativa (izquierda) y heterofermentativa (derecha) de la glucosa (Wee *et al.*, 2006)

Los microorganismos empleados para la fermentación de los azúcares y la obtención de ácido láctico se pueden clasificar en dos grupos: bacterias y fungi. En el fungi los géneros comúnmente utilizados son *Monilia*, *Mucor* y *Rhizopus*, específicamente las especies *R. oryzae* y *R. arrhizus*. Estos tienen la característica de realizar la fermentación en presencia de oxígeno, con fuentes de nitrógeno inorgánico, sin requerir suplementos o aminoácidos. En cuanto a las bacterias, las que se utilizan son las bacterias acidolácticas (BAL o LAB en inglés). La bacteria por excelencia a utilizar en la fermentación es el *Lactobacillus*, las especies más utilizadas son *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. delbrueckii*, entre otras (Wee *et al.*, 2006).

2. Aspectos de la fermentación

Los aspectos que se enlistarán a continuación influyen el rendimiento de la fermentación de azúcares para la obtención de ácido láctico:

a) Microorganismo elegido

Las características del microorganismo que se utilice para llevar a cabo el proceso serán las que determinen las demás condiciones del proceso. Puesto que cada microorganismo funciona en un rango de temperatura, pH distinto; el requerimiento de nutrientes, si funciona en un medio que contenga o no oxígeno presente, el tipo de sustrato que se puede emplear en la fermentación, si es homofermentativa o heterofermentativa la fermentación, el isómero del producto que se obtiene, la factibilidad económica y el rendimiento que se obtenga, entre otros puntos (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

b) Fuente de carbono

Se refiere al sustrato que se utilice para la fermentación y producción de ácido láctico. Según la teoría, se obtienen rendimientos mayores y pureza del producto al utilizar fuentes puras de sustrato. En términos industriales, esto disminuye la inversión que se debe realizar para purificar los compuestos obtenidos, haciendo que sea económicamente viable el uso de materias primas de este tipo. Sin embargo, esto repercute en los costos de la obtención y compra de los materiales. A consecuencia de ello, se ha optado por utilizar fuentes de carbono que provengan de recursos renovables, como lo es el suero, almidón, desechos y residuos alimenticios. Pero, al tener mayor complejidad en su estructura fisicoquímica, es necesario someterlos a un pretratamiento para que las impurezas no afecten considerablemente al rendimiento de la reacción (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

c) Nutrientes esenciales

Para que el microorganismo se pueda desarrollar, es necesario proporcionar los nutrientes necesarios. Estos normalmente no los provee el sustrato utilizado para la fermentación, por lo que es necesario suplementarlos. Será necesario proporcionar fuentes de nitrógeno como aminoácidos, fósforo, vitaminas y minerales. De esta forma, el rendimiento obtenido en la reacción aumentará mientras más rico en nutrientes sea el medio (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

d) pH, temperatura y agitación

De estas condiciones depende el rendimiento de la fermentación, además de que están ligadas a la selección del microorganismo. Un cambio en uno de estos parámetros puede perjudicar apreciablemente la fermentación, al dificultar el desarrollo del microorganismo. Es necesario definir el pH al inicio de la fermentación. Puesto que se estará produciendo un ácido, el medio se volverá ácido conforme avanza el proceso. Es importante respetar el pH al que trabaja el fermentador. En general, existen dos opciones, si el microorganismo trabaja óptimamente en un medio ácido, no será necesario controlarlo. Si está restringido este intervalo de pH y no puede disminuir, será necesario mantenerlo estable mediante una titulación con una base o bien, la utilización de un *buffer* para mantener constante el pH del medio. Se han obtenido mejores rendimientos al mantener el pH en un rango fijo que dejar que aumente con el paso del tiempo (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

En cuanto a la temperatura, esta nuevamente dependerá del microorganismo elegido. Puesto que cada uno trabaja en intervalos distintos, se debe acomodar la temperatura de modo que se obtenga un rendimiento favorable de ácido láctico. Si se trabaja a una temperatura inferior de la requerida, se corre el riesgo de que el microorganismo se inactive, dejando de fermentar los azúcares y afectando drásticamente la producción. Por el contrario, si la temperatura es elevada, el microorganismo no lo tolerará y perecerá. Ahora bien, la agitación permite que el medio se mantenga estable y homogéneo, respecto a nutrientes, temperatura, pH y sustrato (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

e) Subproductos

Los subproductos son compuestos producidos en la fermentación ajenos al producto de interés. Estos influirán en dos sentidos: el primero, si se está formando otra especie química, el rendimiento de la reacción disminuirá porque se estará obteniendo menor cantidad de ácido láctico. Los subproductos serán comunes para las rutas heterofermentativas, siendo común la obtención de ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico, entre otros. El segundo, esto complicará la extracción del ácido láctico, puesto que se debe de incurrir en técnicas de separación para removerlo del subproducto obtenido, de igual forma aumentando los costos globales del proceso (Hofvendahl, & Hahn-Hägerdal, 1999).

3. Tipos de fermentación

El tipo de fermentación (proceso continuo, semicontinuo, por lotes o por lotes alimentado) que se realice dependerá de las condiciones del medio que requieran utilizarse y la resistencia que tenga el microorganismo a la presión osmótica que se ejerce en el proceso. Si no se ve afectado por este último se elige una fermentación por lotes. De lo contrario, se opta por un proceso continuo, semicontinuo o por lotes alimentado (Barillas, 2021).

Cabe destacar que trabajar en un proceso por lotes presenta ciertas ventajas frente a un proceso continuo. En una fermentación batch, se puede controlar el proceso y las variables que lo acompañan, mientras que en uno continuo es probable que haya contaminación cruzada con otro microorganismo. También, en un proceso batch se utiliza completamente el sustrato al permitir que se agote la materia prima empleada. En un proceso continuo es más probable que una fracción significativa de la alimentación no sea usada, afectando en términos económicos al proceso. Por otro lado, en un proceso continuo se trabaja con soluciones más diluidas, si bien esto puede resultar oportuno para algunos casos, tanto los nutrientes como la concentración de sustrato en el medio disminuyen, necesiándose más para no afectar el rendimiento de la fermentación (Barillas, 2021).

4. Inhibición por ácido láctico

A medida que avanza la reacción, se acumula más ácido láctico en el medio. Este compuesto tendrá un efecto osmótico negativo para el microorganismo, ralentizando el proceso y haciendo que el organismo no sobreviva en estas condiciones de estrés. Para evitar que esto suceda, la cepa puede ser inducida a una climatización en medio ácido gradualmente, para que esta se acostumbre y permita desarrollarse en esas circunstancias. Sin embargo, para que esta se propague luego, será necesario someterla a un medio todavía más ácido, complicando el proceso. Otra opción es modificar genéticamente la cepa, para que su pared celular sea más resistente a la presión osmótica que se ejerce en la producción del ácido. Finalmente, una opción que resulta más viable sin necesidad de modificar al organismo fermentador es remover el ácido láctico conforme este se está produciendo; mediante electrodiálisis, extracción o intercambio iónico (Barillas, 2021).

D. Bacteria acidoláctica

La bacteria acidoláctica (BAL o LAB en inglés) es un grupo clasificado como grampositivo caracterizados por transformar la glucosa, mediante catabolismo, en ácido láctico, siendo este el producto mayoritario del proceso. Estos microorganismos se ordenan en forma de varillas o cocos. Para que la BAL crezca, requiere de un ambiente rico en nutrientes, como carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos, vitaminas y minerales. Tienen un amplio rango de temperatura en el que pueden desarrollarse, entre 15 y 45 °C, deben de estar en un pH ácido, en un rango de 3.0-5.0, algunas hasta 7.2. Algunas especies pueden crecer en ambientes con alto contenido de sales (6.5 %-18 % NaCl). Presentan tolerancia a medios ácidos, alcalinos y que contenga etanol. Las bacterias acidolácticas son un componente importante de la flora intestinal humana. Son considerados no patogénicos, a excepción de las caries dentales. Pertenecen a la clasificación de “generalmente considerados como seguros” (GRAS, en inglés), al ser ampliamente utilizados para la fermentación de los alimentos y usados como probióticos (König et al., 2017).

Table 1.1 Current taxonomic outline of lactic acid bacteria^a of the order “Lactobacillales” in the *Clostridium* branch

Family	Genus	Species from must and wine
I. “Aerococcaceae”	I. <i>Abiotrophia</i> II. <i>Aerococcus</i> III. <i>Dolosicoccus</i> IV. <i>Eremococcus</i> V. <i>Facklamia</i> VI. <i>Globicatella</i> VII. <i>Ignavigranum</i>	
II. “Carnobacteriaceae”	I. <i>Alkalibacterium</i> II. <i>Allofustis</i> III. <i>Alloiococcus</i> IV. <i>Atopobacter</i> V. <i>Atopococcus</i> VI. <i>Atopostipes</i> VII. <i>Carnobacterium</i> VIII. <i>Desemzia</i> IX. <i>Dolosigranulum</i> X. <i>Granulicatella</i> XI. <i>Isobaculum</i> XII. <i>Marinilactibacillus</i> XIII. <i>Trichococcus</i>	
III. “Enterococcaceae”	I. <i>Enterococcus</i> II. <i>Melissococcus</i> III. <i>Tetragenococcus</i> IV. <i>Vagococcus</i>	<i>E. faecium</i>
IV. Lactobacillaceae	I. <i>Lactobacillus</i> ^b	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. diolivorans</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. florum</i> , <i>Lb. fructivorans</i> , <i>Lb. hilgardii</i> , <i>Lb. jensenii</i> , <i>Lb. kunkeei</i> , <i>Lb. mali</i> , <i>Lb. nagelii</i> , <i>Lb. oeni</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. vini</i>
	II. <i>Paralactobacillus</i>	
	III. <i>Pediococcus</i>	<i>P. damnosus</i> , <i>P. inopinatus</i> , <i>P. parvulus</i> , <i>P. pentosaceus</i>
V. “Leuconostocaceae”	I. <i>Leuconostoc</i> II. <i>Oenococcus</i> III. <i>Weissella</i>	<i>Lc. mesenteroides</i> <i>O. oeni</i> <i>W. paramesenteroides</i>
VI. Streptococcaceae	I. <i>Lactococcus</i> ^b II. <i>Lactovium</i> III. <i>Streptococcus</i>	

Figura 9. Familias y géneros de las bacterias acidolácticas – Especies utilizadas para la fermentación de vinos (König et al., 2017)

El género *Lactobacillus* se puede dividir en tres grupos, dependiendo de la fermentación que realicen:

- a) Homofermentativo, que producen un producto mayoritario o único en la fermentación.
- b) Facultativamente heterofermentativo, dependiendo de la configuración del azúcar se hará la fermentación. Será de modo homofermentativa si son hexosas y heterofermentativa si son pentosas.
- c) Heterofermentativo, producen una mezcla de productos en la fermentación.

(König et al., 2017)

1. *Lactobacillus leichmannii*

La especie *Lactobacillus leichmannii* presenta características similares a las de *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus lactis* y *Lactobacillus bulgaricus*. Estas bacterias crecen óptimamente a temperaturas de alrededor de 38 °C (± 4 °C), su crecimiento se detiene debajo de los 15 °C y se muere a 60 °C. *Lactobacillus leichmannii* se desarrolla en pH ácidos, entre 4.0-6.0, también está caracterizado por producir únicamente el isómero D (-)-lactosa de carbohidratos configurados en hexosas, como la glucosa, sacarosa, lactosa, entre otras (Weiss et al., 1983).

E. Aplicaciones del ácido láctico

El ácido láctico tiene un amplio campo de aplicación en las industrias. En general, hay cuatro categorías principales en las que se usa exhaustivamente este compuesto, siendo estas: alimentos, farmacia, cosméticos y aplicaciones químicas. El ácido láctico está clasificado como una sustancia generalmente reconocida como segura (siendo las siglas en inglés GRAS), al ser utilizado como aditivo de alimentos en los procesos de manufactura. Entre las funciones del ácido láctico dentro del ámbito alimenticio, se encuentra: regulador de pH, como saborizante, mejora la calidad microbiana y provee fortificación mineral. De igual forma, es utilizado como conservante de alimentos, como carnes; también es empleado como acidulante para aderezos de ensalada, jaleas, bebidas, productos de repostería, entre otros (Wee, 2006).

En cuanto a la industria farmacéutica, el ácido láctico se usa como un electrolito en las soluciones intravenosas, para restituir los fluidos del cuerpo. Por otro lado, es aplicado en la preparación de tabletas, suturas quirúrgicas y prótesis. En el sector cosmético, la propiedad más empleada de este ácido es su capacidad para regular el pH, además de funcionar como un humectante, eliminar actividad microbiana, aclaramiento de la piel. Puesto que es un compuesto que no es ajeno al cuerpo humano, el ácido láctico al igual que su sal es un ingrediente ideal, al ser natural y seguro de uso (Wee, 2006).

Ahora bien, el uso del ácido láctico en la industria química es variado. Funcionando como agente neutralizante y desincrustante, regulador de pH, solvente, agente complejante de metales; siendo empleado en detergentes, herbicidas, removedor de resinas y polímeros.

Finalmente, este componente también es de alto interés para reacciones químicas, al poseer dos grupos funcionales reactivos, un carboxilo y un hidroxilo. Al someterlo a hidrogenación, se produce óxido de propileno, al descarboxilarlo, se obtiene acetaldehído, en una reacción de deshidratación consigue ácido acrílico, mediante reducción se sintetiza ácido propanoico. Para la industria de polímeros, el ácido láctico es útil para formar ácido poliláctico (PLA), un plástico biodegradable. Para ello se requiere un alto grado de pureza de la materia prima. Este polímero se obtiene al utilizar reacciones de policondensación, despolimerización y polimerización por apertura de anillo. Este material es destinado a la fabricación de ropa protectora, empaques de alimentos, bolsas de basura, entre otros (Wee, 2006).

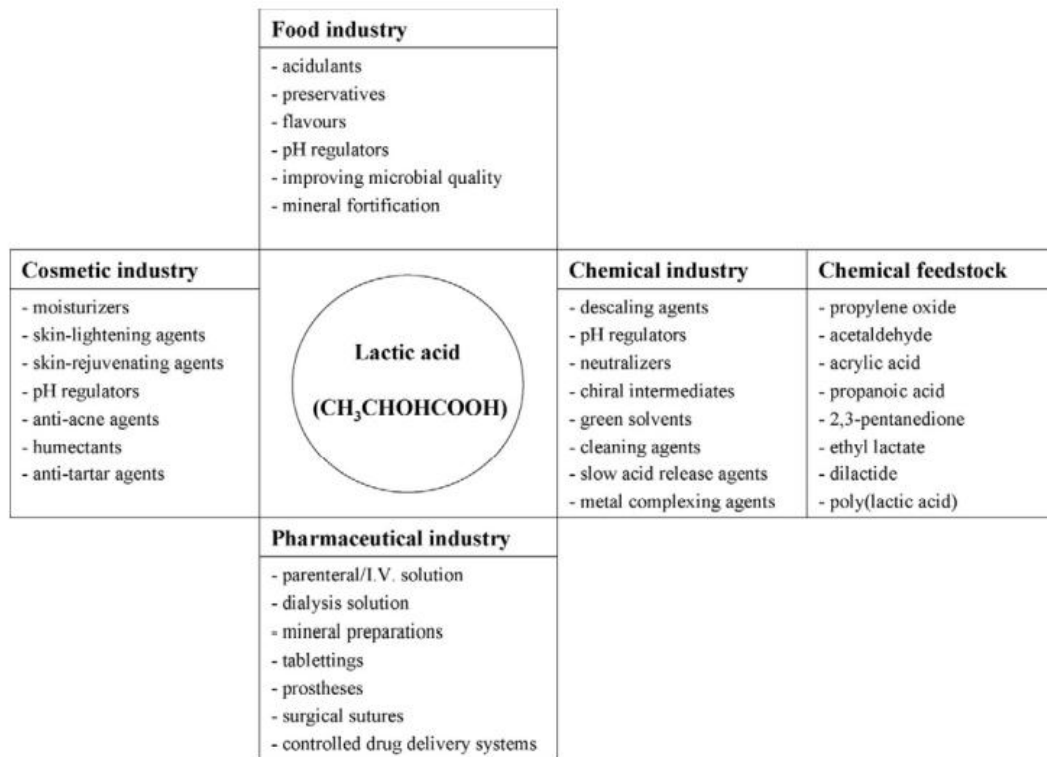


Figura 10. Aplicaciones del ácido láctico en diferentes ámbitos (Datta et al., 1995)

F. Mercado del ácido láctico a nivel mundial

El mercado del ácido láctico tuvo una valoración de \$2.9 billones en 2021 y \$3.1 billones en el 2022, se predice que este continuará su desarrollo, teniendo una tasa compuesta de crecimiento anual (CAGR siendo su abreviación en inglés) del 8 % en el período del 2022-2030. La demanda se estima que será en los países con economías emergentes, como lo es China, India, e Indonesia. Durante la pandemia de COVID-19, el ácido láctico fue de gran importancia, al ser utilizado para la producción de PLA. Por otro lado, aumentó el consumo de alimentos empacados, por lo que la propiedad del ácido láctico para ser un conservante alimenticio fue de gran utilidad, promoviendo su comercialización. Las materias primas que más se han utilizado para la síntesis y que han aportado mayor cantidad de ingresos son la caña de azúcar y el maíz. La región que dominó la oferta y demanda del ácido láctico fue Norteamérica, ocupando aproximadamente el

45% de las transacciones. Esto se debe al desarrollo de las industrias de cosméticos, farmacéuticas, comida y bebidas (GVR, 2022).

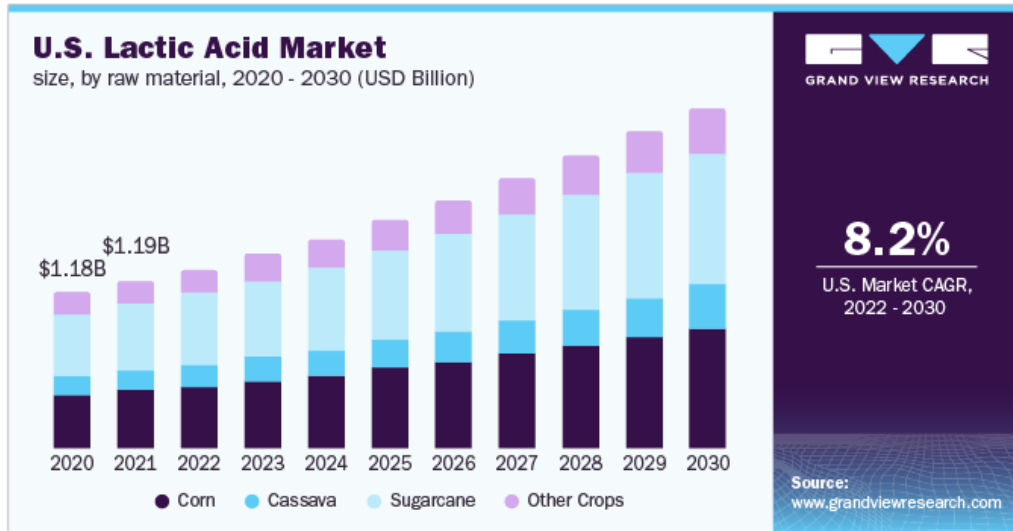


Figura 11. Pronóstico del crecimiento del mercado mundial de ácido láctico (GVR, 2022)

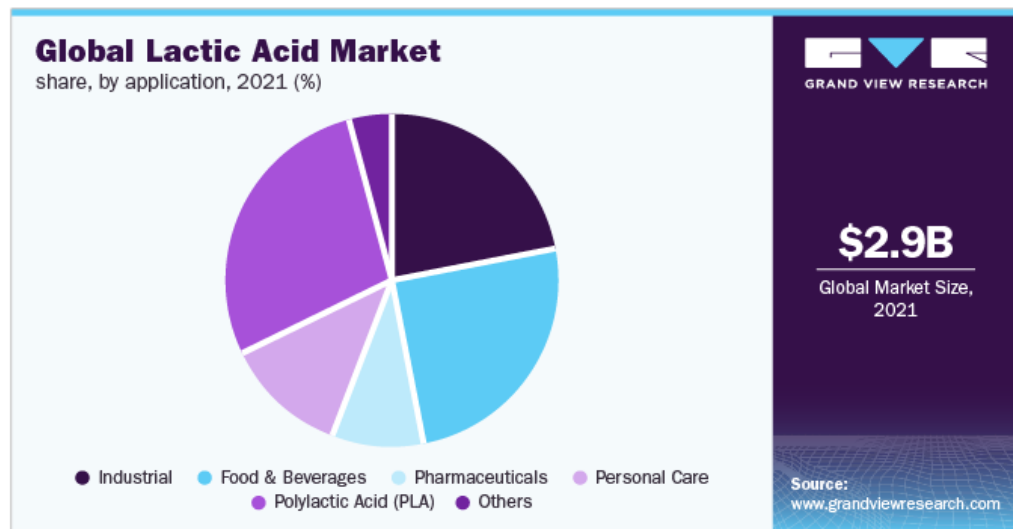
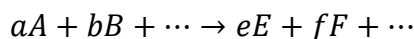


Figura 12. Aplicación del ácido láctico en diferentes industrias (GVR, 2022)

G. Cinética química

La cinética química o cinética de reacciones comprende el estudio de las velocidades y mecanismos que están involucrados al momento de que ocurre una reacción química. Para que la reacción se pueda llevar a cabo, esta no debe de estar en el equilibrio. Las reacciones pueden clasificarse según la fase en la que está ocurriendo. Se conoce como reacción homogénea cuando esta solo ocurre en una única fase y la reacción heterogénea que los componentes químicos están presentes en dos o más fases. Una reacción homogénea se puede escribir como:



Ecuación 1. Forma general de una reacción homogénea (Levine, 2014).

Donde:

a, b, \dots, e, f, \dots son los coeficientes estequiométricos de la ecuación balanceada de las especies químicas A, B, ..., E, F,

La velocidad con la que se consume cualquier reactivo es proporcional a su coeficiente estequiométrico que tenga en la reacción (Levine, 2014). Por lo tanto, se puede definir una velocidad de conversión como:

$$J = -\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{dn_B}{dt} = \dots = \frac{1}{e} \frac{dn_E}{dt} = \frac{1}{f} \frac{dn_F}{dt} = \dots$$

Ecuación 2. Velocidad de conversión (Levine, 2014).

Donde:

J : es la velocidad de conversión para una reacción homogénea.

n_i : número de moles para una especie i en el sistema.

t : tiempo.

$\frac{dn_i}{dt}$: variación del número de moles de la especie i respecto al tiempo.

Esta velocidad depende del tamaño del sistema. Puesto que los reactivos se están transformando en productos y se están agotando, la variación de los moles será negativa, mientras que para los productos será positiva. Derivado de esta velocidad se puede modelar la velocidad de la reacción r que hay en el proceso, como la velocidad de conversión por volumen unitario (Levine, 2014).

$$r \equiv \frac{J}{V} = \frac{1}{V} \left(-\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} \right)$$

Ecuación 3. Velocidad de reacción en términos de la especie A (Levine, 2014).

La velocidad de reacción depende de la temperatura y presión del sistema, al igual que las concentraciones de las especies presentes. Para la mayoría de las situaciones, el volumen se mantendrá constante o con cambios insignificantes, permitiendo reescribir la expresión anterior como:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \dots = \frac{1}{e} \frac{d[E]}{dt} = \frac{1}{f} \frac{d[F]}{dt} = \dots$$

Ecuación 4. Velocidad de reacción a volumen constante (Levine, 2014).

Donde:

$[i]$: es la concentración molar de la especie i en la reacción.

La velocidad de reacción se ve influenciada con el cambio de la temperatura del sistema. Comúnmente al aumentar la temperatura aumentará la velocidad de reacción, puesto que se le está impartiendo mayor cantidad de energía térmica y cinética a las

moléculas, aumentando las colisiones entre ellas y acelerando la reacción. Arrhenius en 1889, modeló una ecuación que permite identificar el cambio de la velocidad de reacción, según el cambio de la constante de proporcionalidad k , que se denomina coeficiente de velocidad (Levine, 2014).

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$$

Ecuación 5. Ecuación de Arrhenius (Levine, 2014)

Donde:

A : es el factor pre-exponencial o factor A de Arrhenius.

E_a : es la energía de activación de Arrhenius.

R : es la constante de los gases ideales.

T : temperatura.

Las constantes A y E_a son características de la reacción que se está llevando a cabo.

H. Reactor intermitente local

Este es un reactor por lotes, operando de forma no estacionaria. Este reactor es cargado con materia una única vez, al reaccionar esta tendrá un tiempo de reacción y al finalizar esta, se descarga por completo el volumen obtenido. A pesar de que la composición está constantemente cambiando con el tiempo, se considera que es uniforme en cualquier punto que se mida del reactor. Al no haber entradas y salidas durante el proceso, se puede modelar el balance de materia para una sustancia como la velocidad en la que se consume el reactivo en un volumen determinado es igual al negativo de la velocidad con la que se acumula el reactivo en el mismo volumen en el reactor (Levenspiel, 1999). Por lo tanto, la ecuación que relaciona este comportamiento es:

$$-(r_A)V = N_{A0} \frac{dX_A}{dt}$$

Ecuación 6. Velocidad de reacción del componente A en un reactor por lotes (Levenspiel, 1999).

Donde:

r_A : es la velocidad de reacción del componente A.

V : el volumen que ocupa el reactor.

N_{A0} : es el número de moles del componente A al inicio de la reacción.

$\frac{dX_A}{dt}$: representa el cambio que hay en la fracción molar del componente A respecto al tiempo.

Al resolver la ecuación diferencial y despejando para el tiempo, se obtiene la ecuación que indica el tiempo de la reacción para que esta se complete.

$$t = N_{A0} \int_0^{X_A} \frac{dX_A}{(-r_A)V}$$

Ecuación 7. Tiempo necesario de reacción respecto al componente A en un reactor por lotes (Levenspiel, 1999).

I. Caracterización fisicoquímica

La caracterización fisicoquímica se refiere a determinar las propiedades físicas y químicas de una muestra o analito en cuestión. Esta serie de procedimientos son realizados para poder determinar el uso que se le puede dar la materia prima o producto y también, si este será utilizado en algún proceso, los tratamientos previos a los que se debe de someter para no afectar el rendimiento de la producción por impurezas o haya contaminación. Para los lactosueros, los parámetros que se buscan determinar son: el contenido de grasas, las proteínas presentes, azúcares en el medio, el porcentaje de sólidos totales y cenizas, el pH, la densidad que tiene y el porcentaje de humedad que tiene si este está en forma sólida (Guerrero et al., 2010).

J. Análisis químico

El análisis químico implica un conjunto de técnicas y procedimientos para la cuantificación e identificación de los componentes químicos de una muestra. A los constituyentes de interés normalmente se les conoce como analitos. Se pueden realizar dos tipos de análisis: el análisis químico, que revela la identidad de los elementos y compuestos en la muestra; el análisis cuantitativo, que determina la cantidad de cada sustancia en la muestra. Los análisis químicos son ampliamente utilizados en la ingeniería, medicina, agricultura, ciencias ambientales, geología, biología, química, entre otros campos (Skoog et al., 2015).

Los métodos analíticos pueden ser clasificados como: métodos gravimétricos, en los que se determina la masa de un analito o especie química relacionado a este. Métodos volumétricos, se mide el volumen de una solución que contiene suficiente cantidad de reactivo para que reaccione completamente con el analito. Métodos electroanalíticos, se miden propiedades eléctricas como el potencial, corriente, potencia, resistencia y cantidad de carga eléctrica. Métodos espectroscópicos, mediante el uso de equipos se explora la interacción que existe entre la radiación electromagnética y las moléculas o átomos que conforman al analito, también, se mide la radiación electromagnética que emiten las sustancias estudiadas (Skoog et al., 2015).

1. Cromatografía líquida de alta resolución

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC en inglés) es un tipo de cromatografía por elusión más versátil y que más se utiliza. Ésta técnica es ampliamente utilizada para determinar y separar especies en diversos materiales orgánicos, inorgánicos o biológicos. En el método de la cromatografía líquida, la fase móvil será un disolvente

líquido conteniendo a la muestra, que a su vez es una mezcla de diferentes componentes y solutos. Por interacciones químicas con la columna, que es la fase estacionaria, los componentes serán separados por afinidad, permitiendo realizar una cuantificación del analito. Existen diversos tipos de HPLC, según el mecanismo de separación o tipo de fase estacionaria empleada, estos son: cromatografía de partición (líquido-líquido), cromatografía de adsorción (líquido-sólido), cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión molecular, cromatografía de afinidad y cromatografía quiral (Skoog et al., 2015).

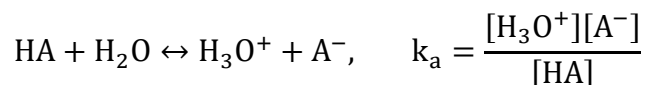
2. Cuantificación de población microbiana

La cuantificación de la población microbiana se puede realizar utilizando distintos métodos. Dos funciones pueden tener los métodos seleccionados, pueden determinar el número de células presentes en una muestra o bien, la densidad celular existente. Para cuantificar los microorganismos presentes, el método por que se opta es el recuento en placa. Su procedimiento consiste en diluir la muestra de interés, facilitando el conteo individual de las células, con el objeto de cuantificar y distinguir por forma o tamaño la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC). Se realiza el supuesto de que cada célula en el contenedor será una UFC. Al realizar el conteo, el número de colonias indicará cuántos microorganismos podrán crecer en las condiciones en que fueron incubados. Para realizar el conteo, se utilizan herramientas adecuadas para ello, como lo es la cámara de Neubauer, delimitando mediante secciones y subsecciones cuadrículas la población a contar (Barillas, 2021).

En cuanto a la densidad molecular, los métodos utilizados son: gravimetría o peso seco y turbidimetría. El primero consiste en realizar un pesado de la masa bacteriana de una muestra, después de que esta fue sometida a un proceso para remover el agua del medio. Este método resulta impráctico en algunos casos, puesto que no se permite hacer la diferenciación de las células que están vivas y muertas, de igual forma, si hay contaminantes, como sólidos residuales, se puede cometer un error de cálculo si esto no es corregido adecuadamente. Por otro lado, la turbidimetría mide mediante un espectrofotómetro la cantidad de radiación en la longitud de onda que absorbe el microorganismo, siendo proporcional la cantidad de células a la turbidez del medio. Al emplear las ecuaciones respectivas se puede determinar el número de células presentes en la muestra (Barillas, 2021).

K. *Buffer* químico

Un *buffer* o disolución amortiguadora tiene como característica resistir los cambios en su pH cuando esta es diluida o se le adicionan bases o ácidos. Las disoluciones reguladoras son preparadas al utilizar un par ácido/base conjugado. Esto implica que, para un ácido fuerte, este tendrá una base débil como conjugada; para una base fuerte, su conjugado será un ácido débil (Skoog *et al.*, 2015). Para un sistema en equilibrio, en el que hay un ácido débil HA y su base conjugada A⁻ se tiene la reacción:

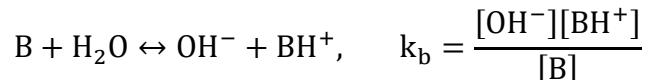


Ecuación 8. Reacción de la disolución de un ácido débil (Skoog *et al.*, 2015).

Donde:

k_a : es la constante de disociación de un ácido débil.

La ecuación también se puede escribir en términos de una base débil, siendo B la base débil y BH^+ su ácido conjugado.



Ecuación 9. Reacción de la disolución de una base débil (Skoog *et al.*, 2015).

Donde:

k_b : es la constante de disociación de una base débil.

Al reescribir las expresiones de las constantes de disociación en términos logarítmicos y reordenando la relación de concentraciones, Lawrence Joseph Henderson y Karl Albert Hasselbach determinaron una expresión que permite determinar el pH de la disolución realizada y es útil para los cálculos que involucran *buffer* (Skoog *et al.*, 2015).

$$\text{pH} = \text{pka} + \log\left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}\right)$$

$$\text{pOH} = \text{pkb} + \log\left(\frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]}\right)$$

Ecuación 10. Ecuación de Henderson-Hasselbach (Skoog *et al.*, 2015).

Donde:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+] = -\log[\text{H}^+]$$

$$\text{pOH} = -\log[\text{OH}^-]$$

$$\text{pka} = -\log k_a$$

$$\text{pkb} = -\log k_b$$

L. Berkeley Madonna

Es un software utilizado para resolver ecuaciones diferenciales ordinarias, ecuaciones en diferencias, que son ecuaciones similares a las diferenciales, en forma discreta y cuya solución es una sucesión. También es utilizado para resolver ecuaciones algebraicas trascendentales multidimensionales y realizar simulaciones de modelos discretos. El programa se caracteriza por ser de un uso simple y no requiere de mayor preparación en el ámbito de los lenguajes de programación. Las ecuaciones se ingresan en una ventana, utilizando una notación matemática sencilla. Después de ingresar todos los parámetros, el programa interpreta y ajusta las ecuaciones, posteriormente se le pide al programa que despliegue la solución de forma gráfica (Marcoline *et al.*, 2021).

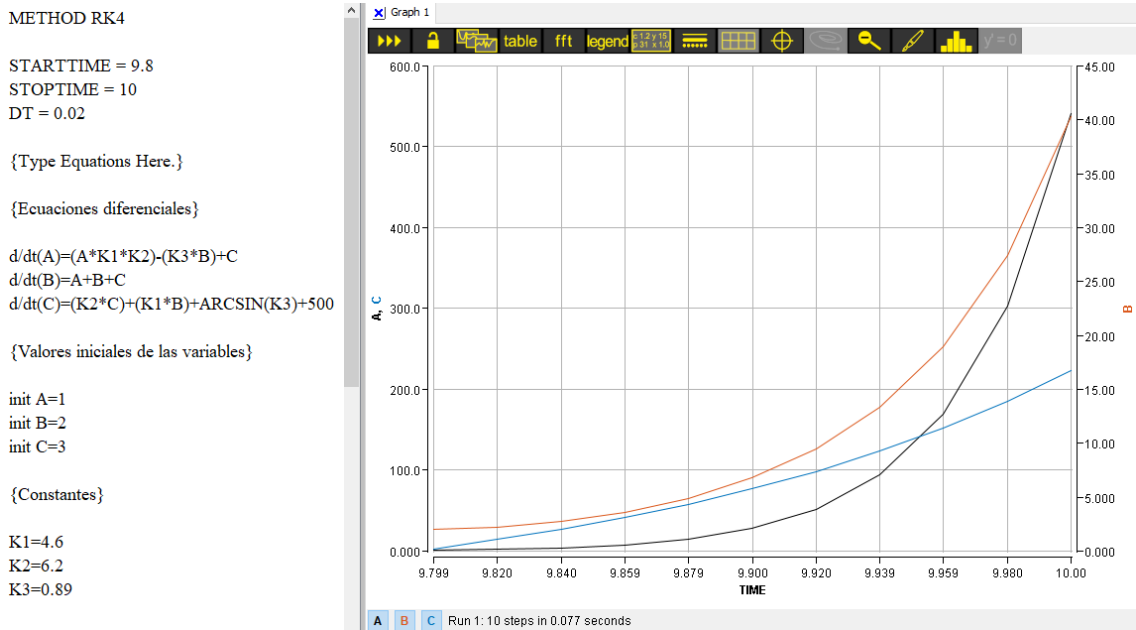


Figura 13. Ejemplo de funcionamiento del software Berkeley Madonna (Autoría propia)

M. Ekomilk

El equipo Ekomilk es un analizador de leche de alta precisión. Su principio de funcionamiento se basa en la tecnología de ultrasonido. El equipo succiona una pequeña muestra de leche y la hace pasar a través de un capilar, donde es sometida a ondas de ultrasonido. Esto le permite medir variables como el tiempo de flujo de la leche a través del capilar, a partir del cual determina el recuento de células somáticas. Además, el equipo también puede medir otros parámetros importantes de la leche, como el contenido de grasa, proteína, lactosa, densidad y sólidos totales. Todo esto lo hace de manera rápida y económica, lo que lo convierte en una herramienta muy útil para los productores lecheros, ya que les permite realizar análisis de calidad de la leche de manera sencilla y a bajo costo. Para la calibración del equipo se hace el ajuste de punto cero, empleando agua destilada y también empleando patrones estándar para realizar la curva de calibración del Ekomilk, teniendo estos patrones concentraciones conocidas de sólidos, proteínas y grasas para ajustar el sensor del equipo y asegurar una correlación lineal de las mediciones experimentales. Cabe destacar que posterior a realizar una medición del líquido experimental es necesario realizar una medición con agua destilada para la limpieza del equipo y eliminar cualquier residuo que la muestra pueda haber dejado (Bulteh 2000, 2024).

V. ANTECEDENTES

En la Universidad del Valle de Guatemala se hizo un estudio en 2021 de producción del ácido láctico a partir de melaza de caña de azúcar. Titulado “Cinética de reacción para la síntesis fermentativa de ácido láctico usando melaza de caña de azúcar mediante la utilización de *Lactobacillus leichmannii*”. Por Anna Barillas de la carrera de ingeniería química industrial. El objetivo del estudio fue desarrollar un modelo cinético de fermentación para la producción de ácido láctico a partir de melaza de caña de azúcar utilizando *Lactobacillus leichmannii* ATCC 7830. El proyecto comenzó evaluando las condiciones de la fuente de carbono, específicamente comparando el uso de melaza con y sin sacarosa hidrolizada para determinar qué opción proporcionaba un rendimiento más alto de ácido láctico durante la fermentación. Durante la experimentación con melaza sin azúcares invertidas se obtuvo un consumo del 81 % de los azúcares totales iniciales y una producción de ácido láctico entre 0.0162 a 0.0339 g/mL. En comparación, la fermentación con melaza hidrolizada resultó en una producción de ácido láctico de 0.0039 g/mL y un consumo del 77 % de los azúcares. Esto indicó que, al no realizar la inversión de los azúcares se obtiene un mejor rendimiento en la fermentación (Barillas, 2021).

En cuanto al modelo cinético que planteó Barillas, este se basó en las ecuaciones propuestas por Amrane y Prigent en 1994. Las cuales se desarrollaron para una fermentación de lactosa para la producción de ácido láctico, empleando *Lactobacillus helveticus* cepa *milano*. Este se realizó dado que, en ocasiones no es posible modelar un crecimiento microbiano estando ligada la tasa de crecimiento específica a la concentración de sustrato, como lo exhibe la ecuación de Monod. La curva que se genera es tipo sigmoidea, siendo la tasa de crecimiento específica una función que depende de la concentración de ácido láctico formado y coeficientes constantes de inhibición. En cuanto al consumo de ácido láctico, la ecuación diseñada denota la dependencia de la concentración del producto con la tasa de crecimiento específica, aplicando coeficientes constantes asociados al crecimiento, mantenimiento y una constante adicional para asegurar que los datos converjan adecuadamente. Barillas en su modelado de ecuaciones readecuó los términos e incluyó coeficientes constantes en el modelo original de Amrane y Prigent a modo de corrección por transferencia de masa. Estas ecuaciones pueden observarse en el apartado de resultados, correspondientes a las Ecuaciones R1, R2 y R3.

Ecuación A1: tasa de crecimiento específico para el modelado del cambio de concentración de microorganismos en el tiempo desarrollado por Amrane y Prigent en 1994.

$$\mu = \frac{dx}{x dt} = \mu_m \frac{1}{1 + \frac{c e^{dt}}{\mu^m - c}}$$

Donde:

Las unidades de μ_m c y d son (tiempo)⁻¹.

Ecuación A2: tasa de crecimiento específico para el modelado del cambio de concentración de microorganismos en el tiempo desarrollado por Amrane y Prigent en 1994.

$$\frac{dp}{dt} = \{A\mu + B[1 - \exp(-F\mu)]\} x$$

Donde:

Las unidades de A son (adimensional), B en (tiempo)⁻¹ y F en (tiempo).

VI. METODOLOGÍA

A. Primera parte: caracterización del lactosuero

Cuadro A: Materiales, equipos y reactivos empleados para la primera parte

Cristalería empleada	Beakers de 50 mL, 100 mL y 500 mL. Balones aforados de 1,000 mL. Crisoles. Tubos de ensayo.
Balanza analítica	Marca: OHAUS, modelo: PIONEER. Rango: 0-160 g. (± 0.001 g)
Potenciómetro	Marca: OHAUS. Modelo: STARTER300 Rango temperatura: 0-100 °C. (± 0.5 °C) Rango pH: 0.00-14.00. (± 0.01)
Mufla	Marca: Thermo Scientific. Modelo: Thermolyne. Temperatura empleada: 1,000 °C.
Horno secador por convección	Marca: VWR, modelo Symphony. Temperatura de secado empleada: 60 °C
Ekomilk	Marca: Bulteh 2000, modelo: Milkana Kam98-2A. Rango grasas: 0.5 a 12 % m/v (± 0.1 % m/v) Rango proteínas: 0.1 a 6 % m/v (± 0.02 % m/v) Rango densidad: 1.0200 a 1.0400 g/mL (± 0.0005 g/mL)

1. Porcentaje de humedad

- a) Pesar 5 gramos de lactosuero en una balanza analítica, someter a proceso de secado en horno a 60 °C por 48 horas o hasta alcanzar peso constante.
- b) Dejar reposar en desecador por 12 horas. Se obtiene la cantidad de materia seca al dividir el peso obtenido dentro del peso húmedo.
- c) El porcentaje de humedad es la diferencia de la unidad con el porcentaje de masa seca.
- d) Repetir el procedimiento para realizar en cuadruplicado la medición.

2. Porcentaje de cenizas

- a) Pesar 5 gramos en un crisol de lactosuero en una balanza analítica, calcinar la muestra en una mufla a 1,000 °C por 5 horas.
- b) Dejar enfriar la muestra e ingresarla en una desecadora por 12 horas.
- c) El porcentaje de cenizas se obtiene al dividir el peso de las cenizas resultantes dentro del peso de la muestra.
- d) Repetir el procedimiento para realizar en cuadruplicado la medición.

3. Cuantificación de proteínas, grasas y densidad

- a) Se pesan 100 g de lactosuero y se colocan en un beaker de 500 mL, adicionando agua destilada y agitando hasta que se disuelva la muestra.
- b) La muestra es trasvasada a un balón aforado de 1,000 mL, realizando lavados al beaker para recuperar la muestra.
- c) Se adiciona agua destilada hasta aforar el balón y se homogeniza la solución, obteniendo una solución al 10 % m/v de lactosuero.
- d) Se toma una muestra de 5 mL del balón aforado y se almacena en un tubo de ensayo.
- e) La muestra es ingresada al equipo Ekomilk, que realizará la determinación de las proteínas, grasas y densidad presentes en la solución de lactosuero.
- f) Repetir el procedimiento para realizar en cuadruplicado la medición.

4. Cuantificación de azúcares

- a) Se pesan 100 g de lactosuero y se colocan en un beaker de 500 mL, adicionando agua destilada y agitando hasta que se disuelva la muestra.
- b) La muestra es trasvasada a un balón aforado de 1,000 mL, realizando lavados al beaker para recuperar la muestra.
- c) Se adiciona agua destilada hasta aforar el balón y se homogeniza la solución, obteniendo una solución al 10 % m/v de lactosuero.
- d) Se toma una muestra de 5 mL del balón y se almacena en un tubo

de ensayo.

- e) Mediante una micropipeta de 1,000 μL , se obtienen 0.5 mL de la solución de lactosuero y verter en un tubo de ensayo con tapón.
- f) Al tubo de ensayo agregar 4.5 mL de agua destilada medidos con la micropipeta, luego cerrar el vial y agitar para homogeneizar el contenido.
- g) Se extrae una alícuota de 1.00 mL de la solución preparada.
- h) Se realiza una cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción, utilizando una columna Hi plex H, para determinar la concentración de azúcares en la muestra.
- i) Repetir el procedimiento para realizar en cuadruplicado la medición.

5. Medición de pH

- a) Se pesan 100 g de lactosuero y se colocan en un beaker de 500 mL, adicionando agua destilada y agitando hasta que se disuelva la muestra.
- b) La muestra es trasvasada a un balón aforado de 1,000 mL, realizando lavados al beaker para recuperar la muestra.
- c) Se adiciona agua destilada hasta aforar el balón y se homogeniza la solución, obteniendo una solución al 10 % m/v de lactosuero.
- d) Se utiliza un potenciómetro (pH-metro) para medir el valor del pH de la solución.
- e) Repetir el procedimiento para realizar en cuadruplicado la medición.

B. Segunda parte: propagación de *Lactobacillus leichmannii*

Cuadro B: Materiales, equipos y reactivos empleados para la segunda parte

Cristalería empleada	Beakers de 100 mL y 500 mL. Balones aforados de 1,000 mL. Tubos de ensayo. Erlenmeyer de 100 mL.
Balanza analítica	Marca: OHAUS, modelo: PIONEER. Rango: 0-160 g. (± 0.001 g)
Autoclave	Marca: Tuttnauer, modelo: LABSCI 11LV. Temperatura de operación: 121 °C.
Agar sólido MRS	Marca: Sharlau. CAS-No. 01-135-500. Preparación: 66 g de sólido por 1 L de agua.

1. Preparación del medio

- a) Se prepara la cristalería que se empleará para preparar el medio en el que crecerá el microorganismo. Se pesan 1.65 g de agar MRS y se agregan en 25 mL de agua destilada en un erlenmeyer de 100 mL.
- b) Se coloca el recipiente en una estufa, se enciende a temperatura que permita llevarlo a punto de ebullición y con agitación, mediante un agitador magnético, para que se disuelva por completo.
- c) Se enciende la autoclave, programado a una temperatura de 121 °C y en un ciclo para caldo de cultivo.
- d) Se llena la autoclave con agua destilada hasta la capacidad requerida, alrededor de una pulgada arriba de la parte superior.
- e) La cristalería con el agar MRS es ingresada a la autoclave, utilizando guantes aislantes de calor por seguridad; cubriendo cada erlenmeyer con papel aluminio los contenedores.
- f) Se cierra la puerta y se bloquea, enroscándola. Se espera a que el ciclo de tiempo se complete, tardando aproximadamente 60 minutos, sin abrir la puerta durante su operación.
- g) Al terminar el ciclo, se debe asegurar que la presión de la cámara sea de 8 psi antes de abrir la compuerta.
- h) Se abre la puerta con cuidado y utilizando los guantes de seguridad.
- i) Esta no se abre por completo, sino nada más una sección, permitiendo que se libere la presión residual y también la presión del

líquido y recipiente se normalice.

j) Se deja en reposo la cristalería por 10 minutos en la recámara. Los recipientes son retirados utilizando los guantes aislantes de calor, sin agitar el líquido o destapándolos.

k) Se dejan enfriar en un área apartada para ello.

l) Después de enfriar se trasvasa el agar a una caja Petri esterilizada.

2. Inoculación

a) Se prepara el área de esterilización, utilizando un mechero.

b) El asa de siembra se esteriliza con la llama del mechero.

c) Se obtiene una muestra de *Lactobacillus leichmannii* con el asa de siembra del cultivo madre y se realizan estriados en el medio preparado.

d) Se repite el procedimiento hasta haber propagado el microorganismo en la caja.

C. Tercera parte: fermentación del lactosuero

Cuadro C: Materiales, equipos y reactivos empleados para la tercera parte

Cristalería empleada	Beakers de 100 mL, 500 mL y 1,000 mL. Balones aforados de 250 y 1,000 mL. Tubos de ensayo. Erlenmeyers de 250 mL. Pipetas de 10 mL graduadas.
Balanza analítica	Marca: OHAUS, modelo: PIONEER. Rango: 0-160 g. (± 0.001 g)
Autoclave	Marca: Tuttnauer, modelo: LABSCI 11LV. Temperatura de operación: 121 °C.
Agitadora “shaker”	Marca: Lab. Companion. Modelo: SI-600 Temperatura empleada: 38 °C Velocidades de agitación empleadas: 50, 100 y 150 rpm.
Centrífuga	Marca: Fisher Scientific, modelo: Centrific Model 228. Revoluciones por minuto empleadas: 3,400.
Ftalato ácido de potasio	Marca: Supelco. CAS-No. 877-24-7. Pureza: 99.5 %. Masa molar: 204.22 g/mol. $pK_a=5.4$.
Ácido clorhídrico	Marca: Supelco. CAS-No. 7647-01-0Pureza: 37 % fumante. Densidad: 1.19 g/mL. Masa molar: 36.458 g/mol.

1. Preparación de lactosuero líquido

- a) Se pesan 100 g de lactosuero y se colocan en un beaker de 500 mL, adicionando agua destilada y agitando hasta que se disuelva la muestra.
- b) La muestra es trasvasada a un balón aforado de 1,000 mL, realizando lavados al beaker para recuperar la muestra.
- c) Se adiciona agua destilada restante hasta aforar el balón y se homogeniza la solución, obteniendo una solución al 10 % m/v de lactosuero.
- d) Para el pretratamiento de lactosuero líquido, se debe desproteínizar el lactosuero mediante un tratamiento térmico.
- e) Se añaden 450 mL la solución a un beaker de 500 mL.
- f) La solución se calienta a 90 °C por 5 minutos, permitiendo que las proteínas precipiten.

- g) Luego se remueven mediante un proceso de filtrado.
2. Preparación de *buffer* de ftalato de potasio
- a) En un erlenmeyer se agregan 100 mL de agua destilada.
- b) Se adicionan 4.5965 mL de ácido clorhídrico al erlenmeyer y se agita para homogeneizar la solución.
- c) La solución se trasvasa a un balón aforado de 250 mL y se afora con agua destilada, obteniendo una solución 0.2220 M.
- d) En un erlenmeyer se agregan 100 mL de agua destilada.
- e) Se adicionan 1.4416 g de ftalato ácido de potasio al erlenmeyer y se agita para disolver el reactivo y homogeneizar la solución.
- f) La solución se trasvasa a un balón aforado de 250 mL y se afora con agua destilada, obteniendo una solución 0.0280 M.
- g) En un beaker de 1,000 mL se mezclan 250 mL de la solución 0.2220 M de ácido clorhídrico y 500 mL de la solución 0.0280 M de ftalato de potasio, obteniendo un *buffer* de un pH de 4.5 y concentración total de 0.2500 M.
- h) Se trasvasa la solución amortiguadora a un contenedor de 1,000 mL.
3. Preparación del medio fermentativo con lactosuero
- a) Se enciende la autoclave, programado a una temperatura de 121 °C y en un ciclo para caldo de cultivo.
- b) Se llena la autoclave con agua destilada hasta la capacidad requerida, alrededor de una pulgada arriba de la parte superior.
- c) La cristalería con el caldo de cultivo es ingresada a la autoclave, utilizando guantes aislantes de calor por seguridad; cubriendo y sellando los contenedores con papel aluminio.
- d) Se cierra la puerta y se bloquea, enroscándola. Se espera a que el ciclo de tiempo se complete, tardando aproximadamente 60 minutos, sin abrir la puerta durante su operación.
- e) Al terminar el ciclo, se debe asegurar que la presión de la cámara sea de 8 psi antes de abrir la compuerta.
- f) Se abre la puerta con cuidado y utilizando los guantes de seguridad. Esta no se abre por completo, sino nada más una sección, permitiendo que se libere la presión residual y también la presión del líquido y recipiente se normalice.
- g) Se deja en reposo la cristalería por 10 minutos en la recámara.

Los recipientes son retirados utilizando los guantes aislantes de calor, sin agitar el líquido o destapándolos.

h) Se dejan enfriar en un área apartada para ello.

4. Inoculación del medio fermentativo con lactosuero y adición de *buffer*
 - a) Se toma una muestra de *Lactobacillus leichmannii* de las cajas Petri en las que previamente se realizó el crecimiento bacteriano, con un asa metálica.
 - b) Se agrega al recipiente preparado con el medio fermentativo con solución de lactosuero 50 mL del *buffer* de ftalato de potasio.

5. Fermentación variando uso de *buffer*, dejando fija la agitación
 - a) Se colocan las soluciones en una agitadora con las condiciones descritas a continuación.
 - b) Se ajustan las condiciones en el fermentador a 38 °C de temperatura y agitación a 100 rpm.
 - c) Se inicia la fermentación del equipo, haciendo dos corridas distintas. Una utilizando una solución de lactosuero que contenga el *buffer* de ftalato de potasio y la otra corrida se utilizará la misma solución sin el uso de *buffer*.
 - d) Se deja fermentar el lactosuero por 48 horas, tomando muestras (intermedias) en estos tiempos: 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas; para cuantificación de azúcares, ácido láctico y biomasa presente.
 - e) Las muestras (intermedias) son guardadas en tubos de ensayo identificados con los datos del procedimiento y hora en que fue extraída la muestra, almacenándolas en un refrigerador.
 - f) Pasado el tiempo de la fermentación se abre el contenedor con la muestra ya fermentada y se deposita en un beaker de 200 mL.
 - g) Se obtienen muestras (finales) de la solución fermentada y se depositan en tubos de ensayo de vidrio identificados con los datos del procedimiento y hora en que fue extraída la muestra, almacenándolas en un refrigerador.

6. Fermentación variando agitación, utilizando o no *buffer*
 - a) Se colocan las soluciones en una agitadora con las condiciones

descritas a continuación.

- b) Se ajustan las condiciones en el fermentador a 38 °C de temperatura.
- c) Para hacer tres experimentaciones distintas se agitará a 50 rpm, 100 rpm y 150 rpm por experimento.
- d) Se inicia la agitación del equipo, haciendo tres corridas diferentes, utilizando en las tres la solución amortiguadora en la muestra a fermentar.
- e) Se deja fermentar el lactosuero por 48 horas, tomando muestras (intermedias) en estos tiempos: 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas; para cuantificación de azúcares, ácido láctico y biomasa presente.
- f) Las muestras (intermedias) son guardadas en tubos de ensayo identificados con los datos del procedimiento y hora en que fue extraída la muestra, almacenándolas en un refrigerador.
- g) Pasado el tiempo de la fermentación se abre el contenedor con la muestra ya fermentada y se deposita en un beaker de 200 mL.
- h) Se obtienen muestras (finales) de la solución fermentada y se depositan en tubos de ensayo de vidrio identificados con los datos del procedimiento y hora en que fue extraída la muestra, almacenándolas en un refrigerador.

7. Análisis de muestras para cuantificar azúcares presentes

- a) Se verifica que las muestras almacenadas tengan un peso equitativo en el tubo de ensayo.
- b) Se colocan en una centrifugadora, se programa a 3,400 rpm y se enciende el equipo, funcionando por 10 min.
- c) Usando una micropipeta de 1,000 μ L, se obtienen 5 mL de la solución de lactosuero y se vierten en un tubo de ensayo con tapón.
- d) Se filtra una alícuota de 1.00 mL de la solución mediante una jeringa y un microfiltro de 5 μ m.
- e) Se realiza una cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción, utilizando una columna Hi plex H, para determinar la concentración de azúcares en la muestra.

8. Análisis de muestras para cuantificar ácido láctico presente

- a) Se verifica que las muestras almacenadas tengan un peso equitativo en el tubo de ensayo.

- b) Se colocan en una centrifugadora, se programa a 3,400 rpm y se enciende el equipo, funcionando por 10 min.
 - c) Usando una micropipeta de 1,000 μL , se obtienen 5 mL de la solución de lactosuero y se vierten en un tubo de ensayo con tapón.
 - d) Se filtra una alícuota de 1.00 mL de la solución mediante una jeringa y un microfiltro de 5 μm .
 - e) Se realiza una cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción, utilizando una columna Hi plex H, para determinar la concentración de ácido láctico en la muestra.
9. Análisis de muestras para cuantificar biomasa presente
- a) Se pesa el tubo de la centrífuga, anotando el peso, luego se vierte 5 mL de la solución fermentada al tubo, pesándolos para comprobar que tienen un peso equitativo.
 - b) Se colocan en una centrifugadora, se programa a 3,400 rpm y se enciende el equipo, funcionando por 10 min.
 - c) Se decanta el líquido separando la biomasa y se somete a un proceso térmico en un horno de convección, programado a una temperatura de 60 °C, dejando la muestra por 24 horas.
 - d) Pasado el tiempo, se remueven las muestras del horno, permitiendo que se enfríen a temperatura ambiente.
 - e) Se pesa el sólido seco obtenido y se calcula la concentración de microorganismos existente en el tiempo de la toma de la muestra.

D. Cuarta parte: modelo cinético de la fermentación

1. Generación de modelo cinético de fermentación, para azúcares consumidos, ácido láctico producido y desarrollo de biomasa

- a) Los resultados de los análisis para azúcares, ácido láctico y biomasa en los tiempos medidos son tabulados en Excel.
- b) Se generan gráficos de dispersión, representando el tiempo en el eje x y la variable medida en el eje y. Se observa si es visible un modelo cinético de la fermentación preexistente.
- c) Se modela un gráfico que represente el cambio de la concentración de biomasa en el tiempo contra la formación de ácido láctico en el tiempo de la fermentación. Determinando si hay asociatividad respecto al crecimiento del microorganismo con la producción de ácido láctico.
- d) Se modela una ecuación que describa el comportamiento de la producción de ácido láctico con el tiempo. Tomando dependencia nada más de la tasa de crecimiento específica, tiempo y concentración de producto. Se toman en cuenta coeficientes constantes adicionales para permitir la convergencia de los datos experimentales con el modelo.
- e) Se modela una ecuación que describa el comportamiento del desarrollo de la población de *Lactobacillus leichmannii* con el tiempo. Tomando dependencia nada más de la tasa de crecimiento específica, tiempo y concentración de producto. Se toman en cuenta coeficientes constantes adicionales para permitir la convergencia de los datos experimentales con el modelo. Considerando la inhibición por la producción de ácido láctico.
- f) Se modela una ecuación que describa el comportamiento del consumo de azúcares presentes en la muestra con el tiempo. Tomando en cuenta la tasa de sustrato utilizado en los modelos generados anteriormente.
- g) Se verifica la afinidad que exista entre las ecuaciones modeladas para la producción de ácido láctico, consumo de azúcares y desarrollo del microorganismo con el tiempo, comparándolos con los datos experimentales. Para la comparación, se utiliza el Software Berkeley Madonna para hacer las gráficas. Se realiza un análisis de error medio cuadrático (RMSE) para la función generada con el modelo.

VII. RESULTADOS

Cuadro 1: Porcentaje de humedad del lactosuero sólido

No. muestra	Porcentaje de humedad (%)	Incertidumbre (\pm %)	Media (%)	Incertidumbre media (\pm %)	Desviación estándar (\pm %)	Intervalo de confianza (%)	Coefficiente de variación
1	2.228	0.029	2.102	0.058	0.089	[1.960, 2.243]	0.042
2	2.019	0.029					
3	2.079	0.029					
4	2.081	0.029					

- Los resultados se obtuvieron a través del cálculo 5, el 16 para incertidumbre y la estadística basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15. Se empleó un horno de secado por convección marca VWR a una temperatura de 60 °C para el secado del lactosuero, durante 48 horas. Se empleó una balanza analítica marca OHAUS para determinar la masa de las muestras.

Cuadro 2: Porcentaje de cenizas del lactosuero sólido

No. muestra	Porcentaje de cenizas (%)	Incertidumbre (\pm %)	Media (%)	Incertidumbre media (\pm %)	Desviación estándar (\pm %)	Intervalo de confianza (%)	Coefficiente de variación
1	32.208	0.030	30.789	0.059	1.168	[28.932, 32.647]	0.038
2	30.814	0.030					
3	29.348	0.029					
4	30.788	0.030					

- Los resultados se obtuvieron a través del cálculo 6, el 17 para incertidumbre y la estadística basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15. Se empleó una mufla marca Thermo Scientific a una temperatura de 1,000 °C para la calcinación del lactosuero, durante 5 horas. Se empleó una balanza analítica marca OHAUS para determinar la masa de las muestras.

Cuadro 3: Concentración peso-volumen de la solución de lactosuero a emplear en la fermentación

No. muestra	Concentración solución (% m/v)	Incertidumbre de concentración (\pm % m/v)	Media (% m/v)	Incertidumbre media (\pm % m/v)	Desviación estándar (\pm % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
1	10.000	0.003	10.001	0.007	0.001	[10.000, 10.002]	< 0.0001
2	10.000	0.003					
3	10.002	0.004					
4	10.001	0.004					

- Los resultados se obtuvieron a través del cálculo 1, 11 para incertidumbre y la estadística basada en los cálculos 2, 12, 13, 14 y 15. Se empleó una balanza analítica marca OHAUS para la determinación de las masas de las soluciones de lactosuero.

Cuadro 4: Densidad de la solución de lactosuero 10.001 % m/v

No. muestra	Densidad de la solución de lactosuero (g/mL)	Incertidumbre de densidad (\pm g/mL)	Media (g/mL)	Incertidumbre media (\pm g/mL)	Desviación estándar (\pm g/mL)	Intervalo de confianza (g/mL)	Coefficiente de variación
1	1.0210	0.0010	1.0210	0.0020	0.0000	[1.0210, 1.0210]	0.0000
2	1.0210	0.0010					
3	1.0210	0.0010					
4	1.0210	0.0010					

- Los resultados se obtuvieron directamente del Ekomilk, marca BULTEH, empelando ultrasonido para la determinación de la densidad del lactosuero líquido. La determinación de la estadística está basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15.

Cuadro 5: pH de la solución de lactosuero al 10.001 % m/v medido a una temperatura de 38 °C

No. muestra	pH solución	Incertidumbre del pH (\pm pH)	Media (pH)	Incertidumbre media (\pm pH)	Desviación estándar (\pm pH)	Intervalo de confianza (pH)	Coefficiente de variación
1	5.92	0.02	5.90	0.04	0.04	[5.83, 5.97]	0.01
2	5.94	0.02					
3	5.91	0.02					
4	5.84	0.02					

- Los resultados se obtuvieron a través del cálculo 4, 12 para incertidumbre y la estadística basada en los cálculos 13, 14 y 15. Se empleó un potenciómetro marca OHAUS para la medición del pH a la temperatura indicada. Se empleó una balanza analítica marca OHAUS para determinar la masa de las muestras.

Cuadro 6: Contenido de grasas en la solución de lactosuero 10.001 % m/v

No. muestra	Contenido de grasas (% m/v)	Incertidumbre de grasas (\pm % m/v)	Media (% m/v)	Incertidumbre e media (\pm % m/v)	Desviación estándar (\pm % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
1	0.00	0.02	0.00	0.04	0.00	[0.00, 0.00]	0.00
2	0.00	0.02					
3	0.00	0.02					
4	0.00	0.02					

- Los resultados se obtuvieron directamente del Ekomilk, marca BULTEH, empelando ultrasonido para la determinación del porcentaje de grasa del lactosuero líquido. La determinación de la estadística está basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15.

Cuadro 7: Contenido de proteínas en la solución de lactosuero 10.001 % m/v

No. muestra	Contenido de proteínas (% m/v)	Incertidumbre de proteínas (\pm % m/v)	Media (% m/v)	Incertidumbre media (\pm % m/v)	Desviación estándar (\pm % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
1	0.13	0.02	0.13	0.04	0.00	[0.13, 0.13]	0.00
2	0.13	0.02					
3	0.13	0.02					
4	0.13	0.02					

- Los resultados se obtuvieron directamente del Ekomilk, marca BULTEH, empelando ultrasonido para la determinación del porcentaje de proteínas del lactosuero líquido. La determinación de la estadística está basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15.

Cuadro 8: Contenido de lactosa en la solución de lactosuero 10.001 % m/v

No. muestra	Contenido de lactosa (% m/v)	Incertidumbre de lactosa (\pm % m/v)	Media (% m/v)	Incertidumbre media (\pm % m/v)	Desviación estándar (\pm % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
1	8.37136	0.00002	8.38205	0.00004	0.15867	[8.12961, 8.63449]	0.01893
2	8.41117	0.00002					
3	8.56570	0.00002					
4	8.17996	0.00002					

- Los resultados del contenido de lactosa en el lactosuero líquido se obtuvieron directamente de un equipo de cromatografía líquida de alta resolución, con detector de índice de refracción, empleando una columna Hi plex H. La determinación de la estadística está basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15.

Cuadro 9: Contenido de ácido láctico en la solución de lactosuero 10.001 % m/v

No. muestra	Contenido de ácido láctico (% m/v)	Incertidumbre de ácido láctico (\pm % m/v)	Media (% m/v)	Incertidumbre media (\pm % m/v)	Desviación estándar (\pm % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
1	0.12928	0.00002	0.19912	0.00004	0.07754	[0.07575, 0.32248]	0.38941
2	0.14009	0.00002					
3	0.23737	0.00002					
4	0.28974	0.00002					

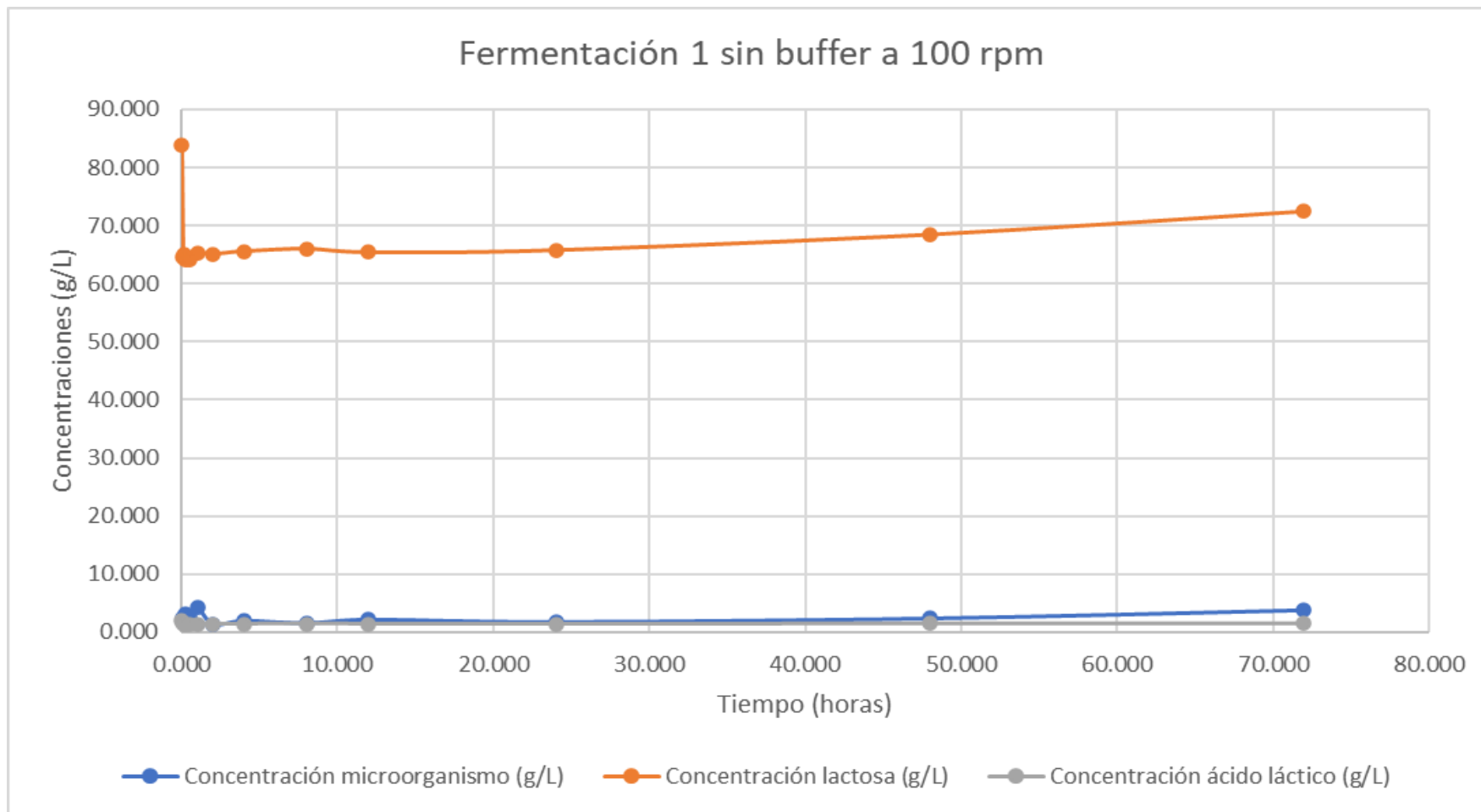
- Los resultados del contenido de ácido láctico en el lactosuero líquido se obtuvieron directamente de un equipo de cromatografía líquida de alta resolución, con detector de índice de refracción, empleando una columna Hi plex H. La determinación de la estadística está basada en los cálculos 4, 12, 13, 14 y 15.

Cuadro 10: Relación estequiométrica teórica ácido láctico/lactosa basada en la reacción de la fermentación de la solución de lactosuero

Volumen base de cálculo (L)	Concentración de lactosa (g/L)	Masa de lactosa (g)	Concentración de ácido láctico (g/L)	Masa de ácido láctico inicial (g)	Masa de ácido láctico de reacción (g)	Masa de ácido láctico total (g)	Relación estequiométrica de reacción $\frac{\text{producto}}{\text{reactivo}}$
0.200	83.820	16.764	1.991	0.398	17.647	18.045	1.076

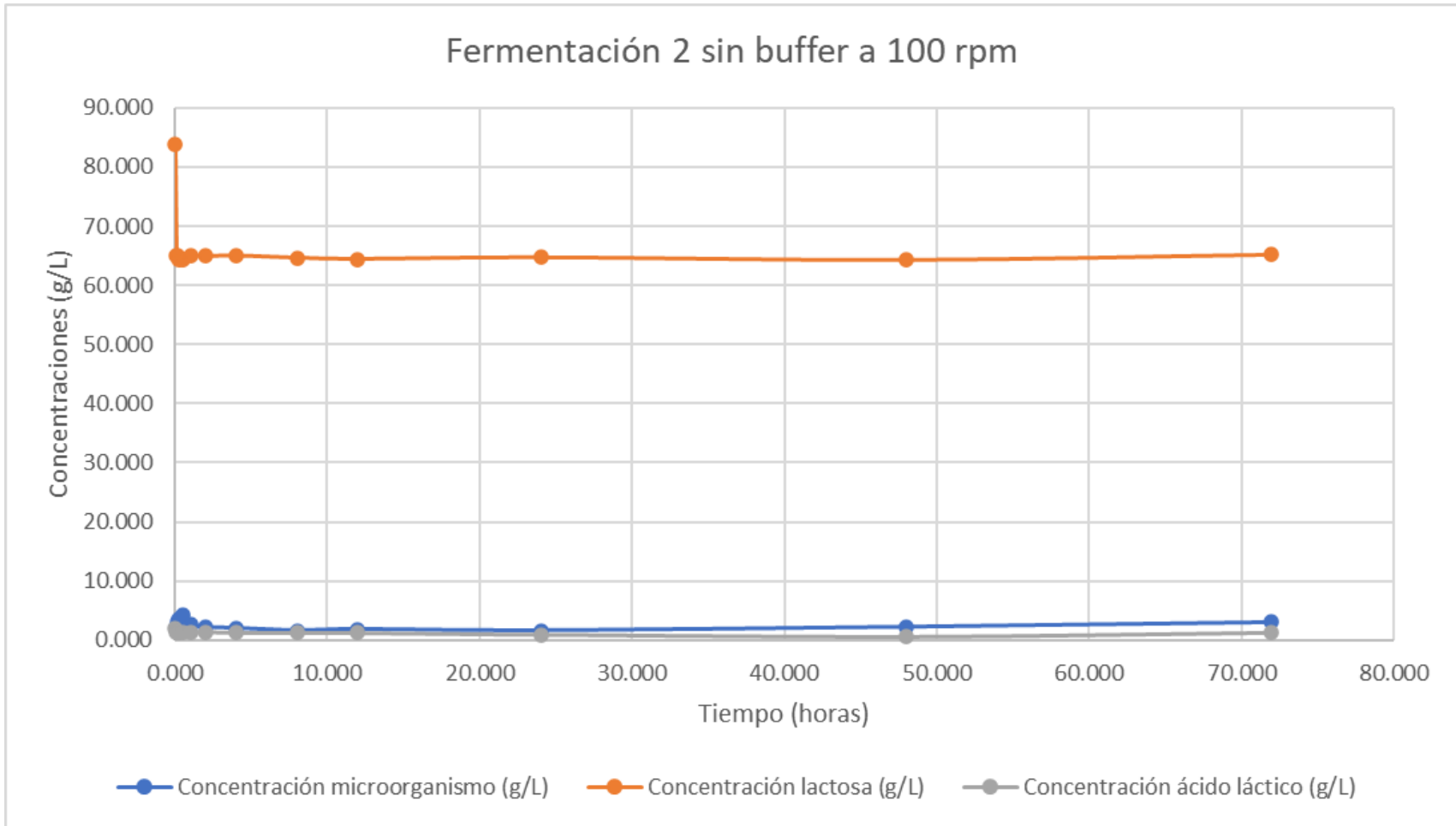
- Los resultados se obtuvieron a través del cálculo 7 y basados en la ecuación 21. Estos denotan la relación estequiométrica teórica que se tendría en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v, convirtiendo la cepa *Lactobacillus leichmannii* la lactosa caracterizada en ácido láctico.

Figura 14: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 1 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin *buffer* a 100 rpm de agitación y 38 °C



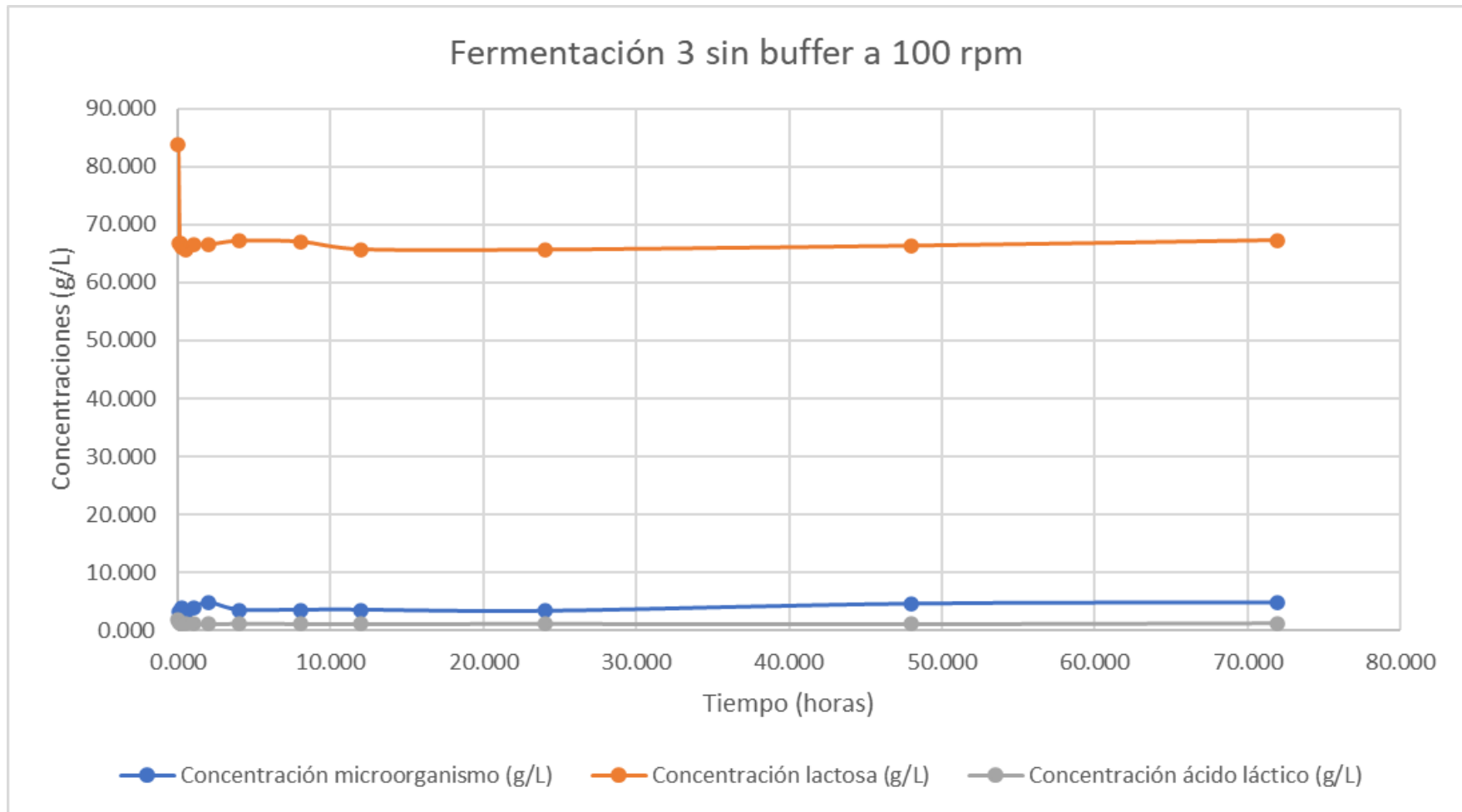
- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 72. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 72 horas.

Figura 15: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 2 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin *buffer* a 100 rpm de agitación y 38 °C



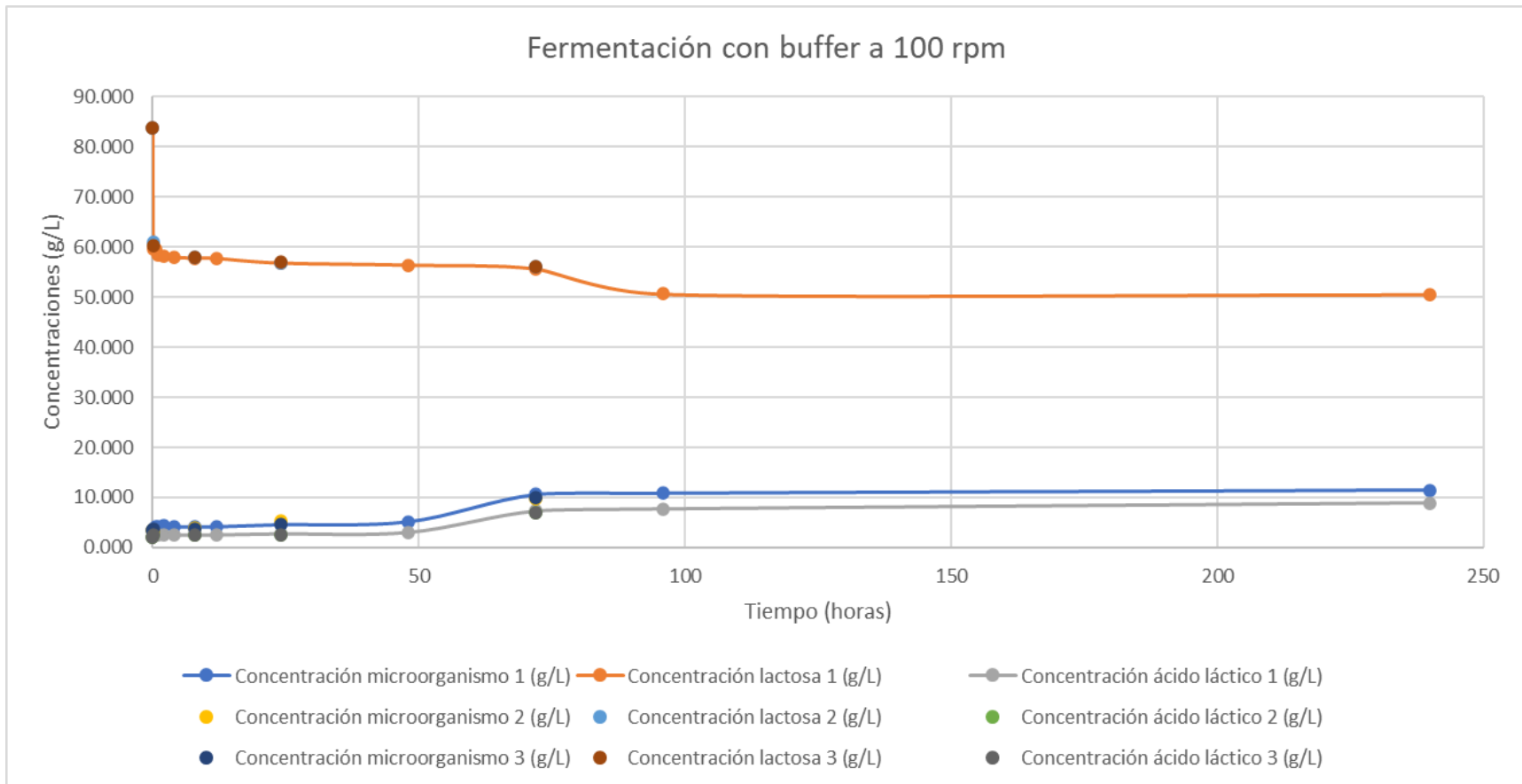
- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 73. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 72 horas.

Figura 16: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la corrida 3 de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v sin *buffer* a 100 rpm de agitación y 38 °C



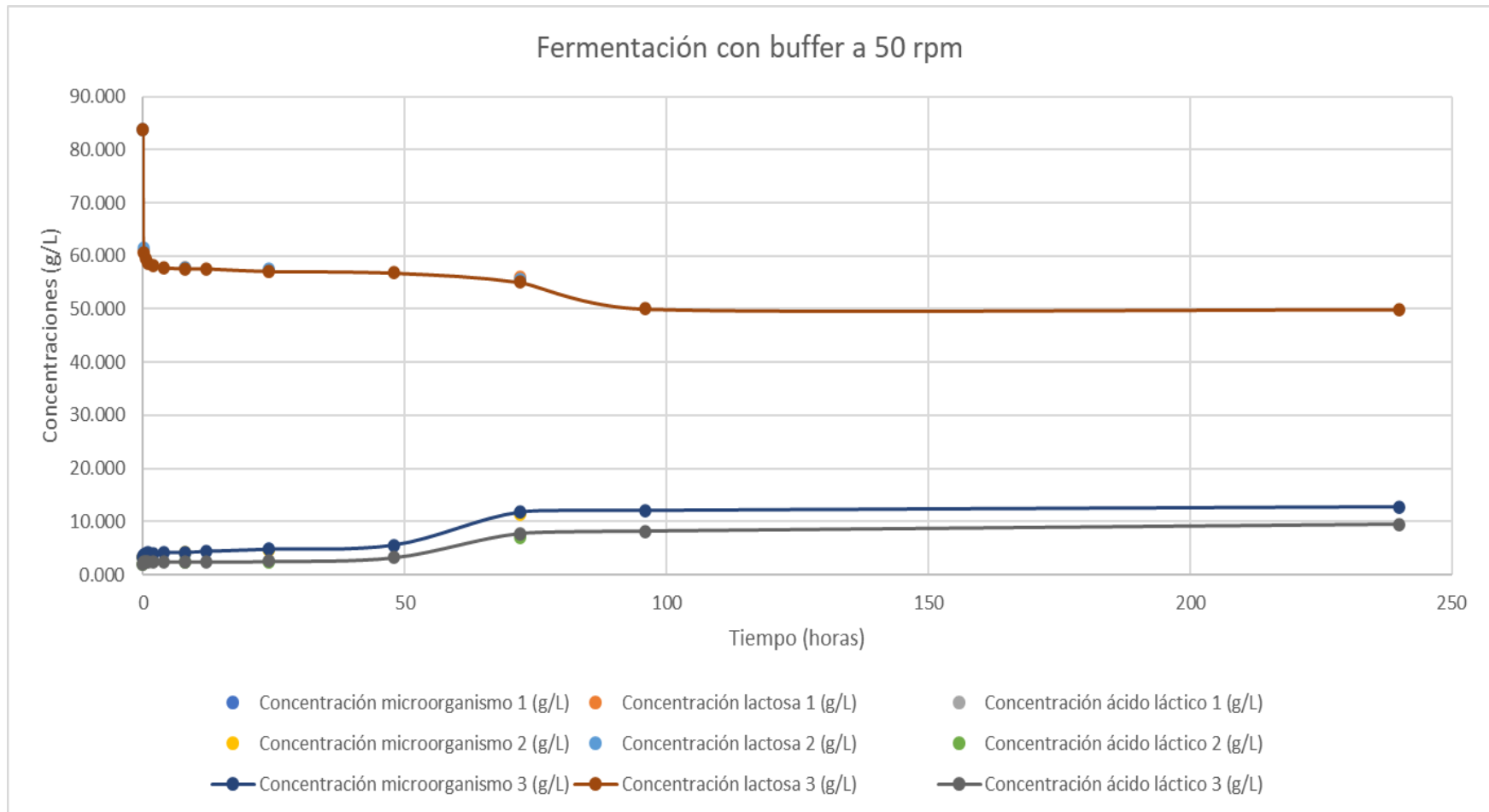
- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 74. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 72 horas.

Figura 17: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 100 rpm de agitación y 38 °C



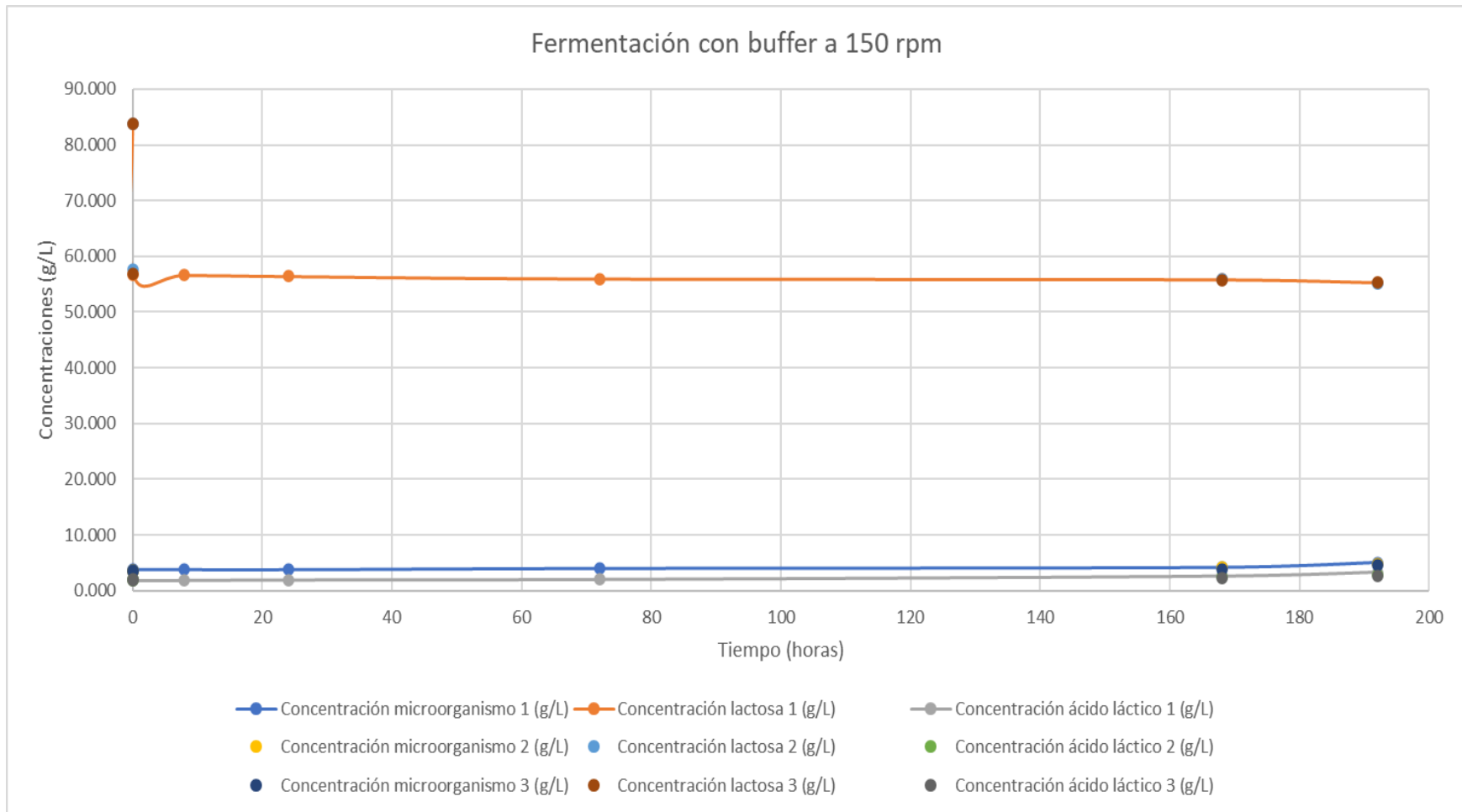
- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 75. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 72 horas. Se extrapolaron datos a partir de la fermentación madre para los tiempos de 96 y 240 horas.

Figura 18: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 50 rpm de agitación y 38 °C



- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 76. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 72 horas. Se extrapolaron datos a partir de la fermentación madre para los tiempos de 96 y 240 horas.

Figura 19: Curva de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 150 rpm de agitación y 38 °C



- Los resultados se graficaron a partir de los datos del Cuadro 77. Se obtuvo el gráfico mediante el programa Microsoft Excel. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. Se observa la gráfica la leyenda que identifica a cada variable. La fermentación se realizó durante 192 horas.

Cuadro 11: Rendimiento experimental de la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v para la producción de ácido láctico utilizando *Lactobacillus leichmannii*

Volumen base de cálculo (L)	Masa de lactosa (g)	Masa de ácido láctico inicial (g) Teórica	Masa de ácido láctico de reacción (g) Teórica	Masa de ácido láctico total (g) Teórica	Masa de ácido láctico producida en la fermentación (g) Experimental	Rendimiento experimental de la fermentación
0.150	12.573	0.299	13.235	13.534	1.418	10.474% m/m

- Los resultados se obtuvieron a partir del cálculo 10. Estos denotan el rendimiento experimental de la fermentación, empleando los resultados de la fermentación del lactosuero con *buffer* de ftalato de potasio y ácido clorhídrico a una velocidad de agitación de 50 rpm.

Ecuación R1: modelo diferencial de la generación de ácido láctico empleando la cepa *Lactobacillus leichmannii*

$$\frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot P$$

Siendo:

$$\mu_p = \frac{\mu_{p,max}}{1 + \frac{P \cdot A \cdot B \cdot e^{(C \cdot t)}}{\mu_{p,max} - B}}$$

Donde:

P es la concentración del producto de la fermentación en un tiempo específico.

dP es el diferencial de la concentración del producto de la fermentación.

t es el tiempo.

dt es el diferencial del tiempo.

μ_p es la tasa de formación específica para la generación de producto.

$\mu_{p,max}$ es la tasa de formación específica máxima para la generación de producto.

A es un coeficiente constante de inhibición en el modelo de formación de producto.

B y C son coeficientes constantes del modelo de formación de producto proveniente del modelo de Armane y Prigent en 1994.

(Barillas, 2021)

Ecuación R2: modelo diferencial del crecimiento de *Lactobacillus leichmannii* para la producción de ácido láctico

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X$$

Siendo:

$$\mu = \frac{\frac{\mu_{max} \cdot X}{P_{i,max}}}{1 + \frac{X \cdot D \cdot e^{(E \cdot P)}}{\mu_{max} \cdot G - X \cdot F}}$$

Donde:

X es la concentración del microorganismo de la fermentación en un tiempo específico.

dX es el diferencial de la concentración del microorganismo de la fermentación.

dt es el diferencial del tiempo.

μ es la tasa de crecimiento específica para el crecimiento microbiano.

μ_{max} es la tasa de crecimiento máxima para el crecimiento microbiano.

$P_{i,max}$ es la concentración de ácido láctico máximo antes de ser inhibido por el producto.

D, E y F son coeficientes constantes de inhibición empleados en el modelo de crecimiento microbiano.

G es el tiempo en alcanzar μ_{max} luego de la fase de latencia en la curva de crecimiento microbiano.

(Barillas, 2021)

Ecuación R3: modelo diferencial del balance de masa del consumo de sustrato en una fermentación

$$\left(\frac{dS}{dt}\right)_{total} = -\left(\frac{dS}{dt}\right)_{mantenimiento} - \left(\frac{dS}{dt}\right)_{biomasa} - \left(\frac{dS}{dt}\right)_{producto}$$

$$\left(\frac{dS}{dt}\right)_{total} = -\left(H \cdot X + \frac{\mu \cdot X}{Y_{X/S}} + \frac{Q_P}{Y_{P/S}}\right)$$

Siendo:

$$Q_P = Y_{P/X} \cdot \mu_p \cdot P \quad \text{o bien} \quad Q_P = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X$$

Donde:

S es la concentración del sustrato de la fermentación en un tiempo específico.

dS es el diferencial de la concentración del sustrato de la fermentación.

X es la concentración del microorganismo de la fermentación en un tiempo específico.

dt es el diferencial del tiempo.

H es la constante de mantenimiento del microorganismo en el modelo de consumo de sustrato.

μ es la tasa de crecimiento específica para el crecimiento microbiano.

μ_{max} es la tasa de crecimiento máxima para el crecimiento microbiano.

Q_P es la velocidad volumétrica de formación de producto para una formación de producto asociada al crecimiento microbiano.

$Y_{X/S}$ es un coeficiente de rendimiento de biomasa frente a lactosa.

$Y_{P/S}$ es un coeficiente de rendimiento de ácido láctico frente a lactosa.

$Y_{P/X}$ es un coeficiente de rendimiento de ácido láctico frente a biomasa.

(Levenspiel, 1999)

Ecuación R4: modelo diferencial de la producción de ácido láctico usando la cepa *Lactobacillus leichmannii* para fermentar una solución de lactosuero al 10 % m/v, temperatura de 38 °C y una velocidad de agitación de 50 rpm

$$\frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot P$$

Siendo:

$$\mu_p = \frac{\mu_{p,max}}{1 + \frac{P \cdot A \cdot B \cdot e^{(C \cdot t)}}{\mu_{p,max} - B}} = \frac{0.01732 \text{ h}^{-1}}{1 + \frac{P \cdot 11.50141 \frac{\text{L}}{\text{g}} \cdot 6.81040 \cdot 10^{-8} \text{ h}^{-1} \cdot e^{(0.08855 \text{ h}^{-1} \cdot t)}}{0.01732 \text{ h}^{-1} - 6.81040 \cdot 10^{-8} \text{ h}^{-1}}}$$

Donde:

$$\mu_{p,max} = 0.01732 \text{ h}^{-1} .$$

$$A = 11.50141 \frac{\text{L}}{\text{g}} .$$

$$B = 6.81040 \cdot 10^{-8} \text{ h}^{-1} .$$

$$C = 0.08855 \text{ h}^{-1} .$$

Ecuación R5: modelo diferencial del crecimiento de *Lactobacillus leichmannii* en una solución de lactosuero al 10 % m/v, temperatura de 38 °C y una velocidad de agitación de 50 rpm

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X$$

Siendo:

$$\mu = \frac{\frac{\mu_{max} \cdot X}{P_{i,max}}}{1 + \frac{X \cdot D \cdot e^{(E \cdot P)}}{\mu_{max} \cdot G - X \cdot F}} = \frac{\frac{0.02190 \text{ h}^{-1} \cdot X}{7.53460 \frac{g}{L}}}{1 + \frac{X \cdot 0.02440 \frac{L}{g} \cdot e^{(0.21530 \frac{L}{g} \cdot P)}}{0.02190 \text{ h}^{-1} \cdot 544.89650 \text{ h} - X \cdot 0.94470 \frac{L}{g}}}$$

Donde:

$$\mu_{max} = 0.02190 \text{ h}^{-1}.$$

$$P_{i,max} = 7.53460 \frac{g}{L}.$$

$$D = 0.02440 \frac{L}{g}.$$

$$E = 0.21530 \frac{L}{g}.$$

$$F = 0.94470 \frac{L}{g}.$$

$$G = 544.89650 \text{ h} \text{ o bien } 54.48965 \cdot 10 \text{ h}.$$

Ecuación R6: modelo diferencial del consumo de lactosa usando la cepa *Lactobacillus leichmannii* para fermentar una solución de lactosuero al 10 % m/v, temperatura de 38 °C y una velocidad de agitación de 50 rpm

$$\left(\frac{dS}{dt}\right)_{total} = -\left(1.47780 \cdot 10^{-5} \cdot X + \frac{\mu \cdot X}{0.87374} + \frac{Q_P}{0.01253}\right)$$

Siendo:

$$Q_P = 0.01253 \cdot \mu_P \cdot P \text{ o bien } Q_P = 0.01253 \cdot \mu \cdot X$$

Donde:

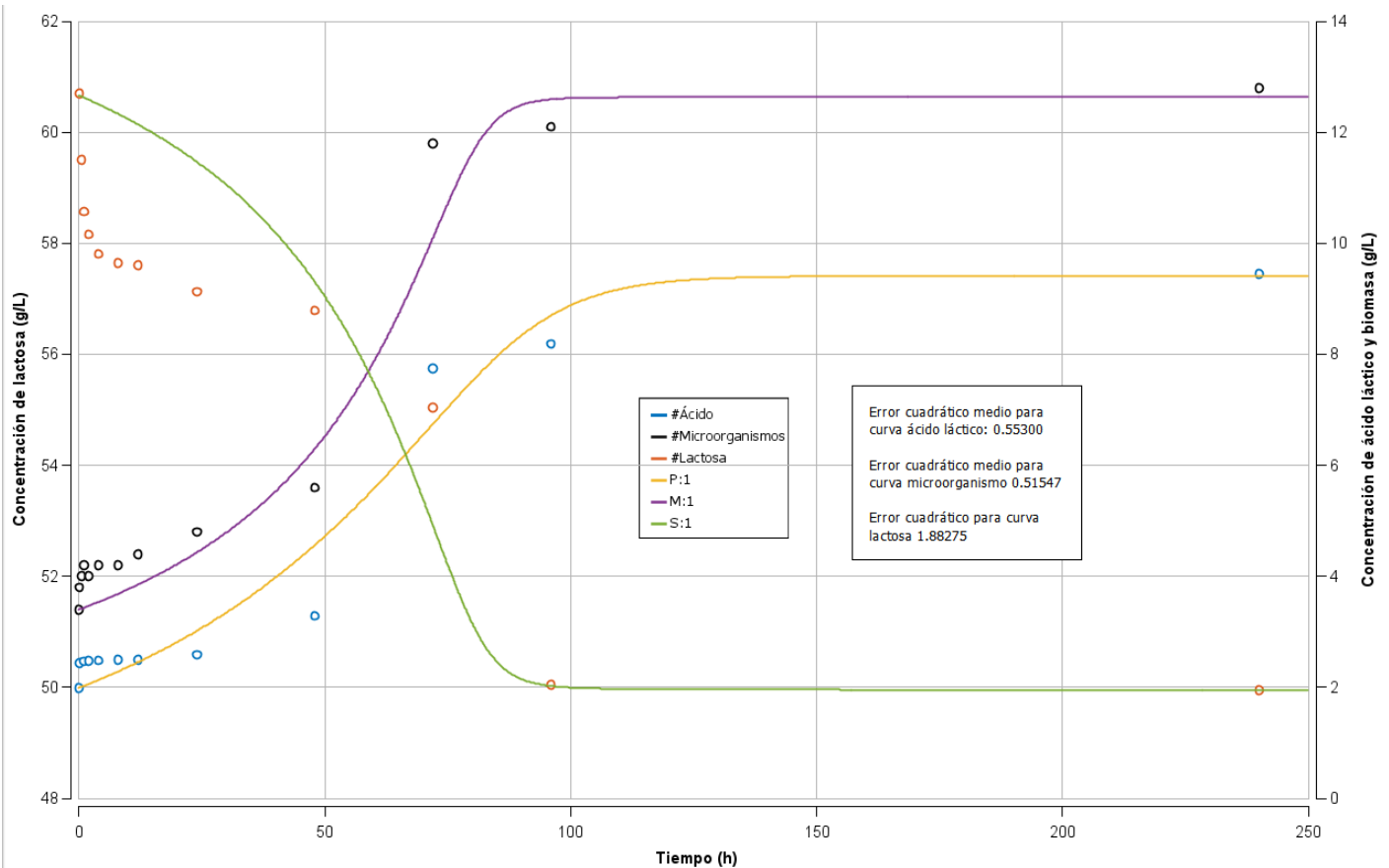
$$H = 1.47780 \cdot 10^{-5} \text{ es adimensional}.$$

$$Y_{X/S} = 0.87374 \text{ fracción m/m}.$$

$$Y_{P/S} = 0.78802 \text{ fracción m/m}.$$

$$Y_{P/X} = 0.01253 \text{ fracción m/m}.$$

Figura 20: Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 50 rpm de agitación



- Esta figura muestra el consumo de lactosa, el crecimiento de la bacteria *Lactobacillus leichmannii* y la formación de ácido láctico con el tiempo. La gráfica se obtuvo al ingresar las ecuaciones R4, R5 y R6 en el software Berkeley Madonna. En el eje horizontal se encuentra el tiempo en horas. En el eje vertical está la concentración medida en gramos por litro. En el lado izquierdo se encuentra la concentración de lactosa. En el lado derecho se encuentra la concentración de biomasa y ácido láctico. En la leyenda P es la curva correspondiente al producto formado, M es la curva del crecimiento microbiano y S es la curva de consumo de sustrato. El modelo se generó para un tiempo total de 250 horas.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como objetivo general del trabajo de graduación, se realizó un estudio técnico de la fermentación láctica de una solución de lactosuero para la producción de ácido láctico. Esta fue preparada a partir de lactosuero en polvo, a una concentración del 10 % m/v (equivalente a 10 gramos de lactosuero por 100 mL de agua); del cual el principal azúcar de su composición es la lactosa. Siendo el primer objetivo la caracterización de la materia prima empleada para la experimentación para determinar el rendimiento teórico de la fermentación, basado en la reacción estequiométrica de la conversión de lactosa al ácido láctico. Se caracterizó el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo; la densidad, pH, cantidad de grasa, proteína, lactosa y contenido inicial de ácido láctico para la solución preparada de lactosuero al 10 % m/v.

Se determinaron los resultados de la caracterización del lactosuero en polvo los cuales se presentan en el cuadro 1 y 2. El porcentaje de humedad que se obtuvo fue de $(2.102 \% \pm 0.058 \%)$ m/m y el porcentaje de cenizas de $(30.789 \% \pm 0.059 \%)$ m/m. Tanto el porcentaje de humedad como el de ceniza tienen una estadística que denota significativa exactitud y precisión, refiriéndose a la desviación estándar (0.089 % y 1.168 % m/m, respectivamente), el intervalo de confianza (1.960 % a 2.243 % m/m y 28.932 % a 32.647 % m/m, respectivamente) y su coeficiente de variación (0.042 y 0.038, respectivamente). Para la determinación de la humedad, se empleó un horno de secado por convección marca VWR a una temperatura de 60 °C por un tiempo de 48 horas para las cuatro muestras, esto permitió asegurar un peso constante y sean confiables los resultados, tal como lo sustenta la estadística discutida previamente. Se obtuvo un resultado que indicó un leve porcentaje de agua en la muestra, por ende, no se aporta una cantidad significativa de agua al momento de preparar la solución, siendo esta despreciable.

Se eligió la temperatura empleada de 60 °C para el proceso de secado para que la muestra alcanzara peso constante sin que esta se viese afectada por la degradación térmica de sus componentes sólidos. De acuerdo con la norma ASTM D1576 y los lineamientos de la AOAC 990.20 el uso de temperaturas moderadas en productos con alto contenido de azúcares (lactosa) y proteínas evita la pirólisis prematura y la reacción de Maillard. Estas normas recomiendan realizar el secado en temperaturas entre 55 a 65 °C dado que en temperaturas superiores a los 70 °C el lactosuero comienza a caramelizarse y a perder masa por descomposición química y no solo la evaporación del agua (AOAC International, 2021) & (ASTM International, 2019).

En el caso del porcentaje de cenizas, se operó una mufla marca Thermo Scientific a una temperatura de 1,000 °C por 5 horas, para calcinar cuatro muestras de lactosuero sólido contenido en crisoles. Se determinó que este valor denota un elevado contenido de materia inorgánica (prácticamente la tercera parte del lactosuero). Probablemente este porcentaje represente los minerales de su composición sin tomar en cuenta la cantidad de agua que también fue eliminada y sí está cuantificada por el porcentaje de humedad. La materia orgánica como las proteínas se desintegran a temperaturas entre 200 a 600 °C, por ello, se seleccionó esa temperatura de 1,000 °C en la calcinación para asegurar que fueran invariantes los resultados y no permanecieran trazas orgánicas (Lehninger & Cox, 2012). Los minerales pueden tener un efecto positivo en la fermentación del medio, dado que se está enriqueciendo con nutrientes. Sin embargo, se desconoce qué minerales están comprendidos en la formulación del lactosuero, por lo que se establece como pertinente un

estudio más profundizado de la composición de las cenizas determinadas.

Es pertinente diferenciar los procesos de calcinación y carbonización durante el análisis térmico. La calcinación por su parte busca la oxidación completa de la materia orgánica presente en la muestra, obteniendo las cenizas. La carbonización implica una descomposición de materia para la formación de carbón o sólidos ricos en este componente, en ausencia de oxígeno. Si bien el experimento se realizó en un crisol con tapa, no se limitó el suministro de aire por ningún medio, considerándose que cualquier grado de carbonización residual sea despreciable para la medición de la fracción inorgánica del lactosuero en polvo (Smith *et al.*, 2018).

Para la caracterización del lactosuero en solución al 10 % m/v se prepararon 4 soluciones de 1 litro a la concentración descrita anteriormente, cuyos resultados se observan en el Cuadro 3. En este se demuestra la exactitud y precisión de su preparación, ya que en promedio la concentración de las soluciones fue del 10.001 % y una incertidumbre del ± 0.007 % m/v. Además de no tener una desviación estándar significativa (± 0.001 % m/v), y por ende un intervalo de confianza estrecho (10.000 % a 10.002 % m/v); así como un coeficiente de variación mínimo (menor a 0.001 % m/v). De cada solución se extrajeron 4 muestras que posteriormente fueron sometidas al análisis de pH, densidad, proteínas, grasas, lactosa y ácido láctico, teniendo en total 16 muestras para análisis por cada variable mencionada. Este esquema de muestreo se ejecutó con el fin de promediar cada cuarteto y prevenir una determinación incorrecta de alguna variable a causa de una homogenización de las soluciones no adecuada.

Ahora bien, en el Cuadro 5 se observa que para la solución de lactosuero al 10 % m/v se registró un pH de 5.90 ± 0.04 a una temperatura de 38 °C, medido con un potenciómetro marca OHAUS. La desviación estándar de este parámetro fue de ± 0.04 y se obtuvo un intervalo de confianza entre 5.83 y 5.97, que representa un rango de 0.14 y un coeficiente de variación de 0.01. Indicando que hubo tanto precisión como exactitud en las mediciones, aportando confiabilidad a los datos medidos. Cabe destacar que las mediciones de pH descritas en el Cuadro 5 corresponden a los cuartetos indicados en el párrafo anterior, correspondiendo el pH del primer cuarteto con la solución 1 del Cuadro 3 y así consecuentemente. Este valor se estableció como el pH de partida para las fermentaciones que no involucren el *buffer* de ftalato de potasio y ácido clorhídrico. Resultando este adecuado dado que la bacteria *Lactobacillus leichmannii* puede fermentar adecuadamente a condiciones de pH entre 4.00 a 6.00. Esta condición inicial se seleccionó para que el pH disminuya a causa de la formación de ácido láctico en el medio sin que se corra el riesgo de que este parámetro se salga del rango mencionado y deba ser regulado por adición de alguna base, como hidróxido de sodio (Guerrero *et al.*, 2010).

En cuanto a los Cuadros 4, 6 y 7, se presentan la densidad de la solución de lactosuero al 10 % m/v, la concentración de proteínas y grasas en la solución descrita en el Cuadro 1. Estos análisis se ejecutaron mediante el equipo Ekomilk marca BULTEH, especializado en analizar muestras lácteas mediante ultrasonido. Se seleccionó este método debido a que tiene la ventaja de que no es destructivo con la muestra, tarda aproximadamente 1 minuto por análisis y resulta más económico en comparación a métodos químicos como Kjeldahl o Soxhlet en el caso de las proteínas y grasas respectivamente. Se determinó una densidad promedio para las soluciones fue de 1.0210 ± 0.0020 g/mL, este parámetro evaluado es importante, dado que es una medida indirecta que determina si ha sido adulterado el lactosuero ya sea por adición de azúcares o agua, en

caso esté en forma líquida. Además, la relevancia de esta variable se fundamenta al estar involucrada en el diseño de procesos y dinámica de los fluidos, especialmente para los tanques de almacenamiento o reacción, así como las bombas que lo desplaza (Rojas et al., 2015).

Para las proteínas, se midió una concentración de 0.13 % m/v, con una incertidumbre de 0.02 % m/v. El valor obtenido hace sentido, dado que la proteína principal de la leche, la caseína (que compone alrededor del 80% de la proteína total de la leche) ha sido removida al momento de separar el suero de la leche en los procesos de producción de los productos derivados de este alimento nutritivo (FAO, 2022). Para la concentración de grasas en el medio, se determinó un valor nulo, debido a que el equipo no detectó trazas de grasas inculcadas en el lactosuero. La grasa queda atrapada al momento de precipitar la caseína durante su separación del suero lácteo que fundamenta por qué el contenido de grasa fue mínimo o bien, nulo (FAO, 2022) en el lactosuero analizado. Los valores obtenidos para los parámetros discutidos en este párrafo fueron idénticos para cada cuarteto de mediciones, por lo que las variables estadísticas como la desviación estándar, intervalo de confianza y coeficiente de variación resultan nulas, validando que los datos son reproducibles, exactos y precisos.

Tanto la composición de proteínas como grasas presentes son útiles conocerlas ya que proveen un estimado de la materia orgánica que está presente en la muestra. Por ello el tratamiento térmico que debe de realizársele a la muestra para eliminar las proteínas del medio. Dado que podrían actuar como interferentes en la medición de los resultados, modificando la cantidad presente de biomasa al precipitar por el cambio del pH en el medio, al haber alcanzado su punto isoeléctrico o inhibir el crecimiento del microorganismo si se descomponen las grasas y proteínas. También, puede afectar al balance de los nutrientes añadidos al medio, dado que las proteínas son fuente de nitrógeno. Sin embargo, es pertinente analizar si realmente estas macromoléculas resultan perjudiciales para la fermentación o bien, si mejoran el rendimiento (Lehninger & Cox, 2012).

Las proteínas como se mencionó anteriormente proporcionan una fuente rica de nitrógeno orgánico y aminoácidos esenciales, promoviendo el crecimiento de la bacteria durante la fase de latencia y la densidad de biomasa. Por otro lado, una concentración excesiva de proteínas en el medio en comparación con la fuente de carbono podría ocasionar un desvío de la ruta metabólica para producir ácido láctico y enfocarse la bacteria en la formación de biomasa. Las grasas por su parte son una fuente de carbono. Pero en altas concentraciones pueden interferir mecánicamente, generando una capa hidrofóbica alrededor de la membrana celular, dificultando la expulsión de metabolitos y transporte del sustrato, limitando la cinética de la fermentación (Lehninger & Cox, 2012).

Respecto a los Cuadros 8 y 9, se presentan la concentración de lactosa y ácido láctico en las muestras de lactosuero analizadas, especificadas en el Cuadro 3. Estos análisis se ejecutaron en un cromatógrafo por medio de cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción. Se cuantificó una concentración de lactosa fue de $8.38205 \% \pm 0.0004 \% \text{ m/v}$ y para el ácido láctico inicial fue de $0.19912 \% \pm 0.00004 \% \text{ m/v}$. Que representa una concentración de 83.820 g/L para la lactosa y 1.991 g/L para el ácido láctico en una solución de lactosuero al 10 % m/v. La estadística para ambos resultados no es significativa, lo que indica que las mediciones se realizaron con precisión, exactitud y los datos presentan alta confiabilidad. Las concentraciones anteriormente descritas se establecieron como la concentración inicial que se tendrá de sustrato y de

producto al momento de hacer la fermentación del lactosuero, empleando la cepa *Lactobacillus leichmannii*.

Como se ilustra en el Cuadro 10, al emplear un volumen de 200 mL de solución al 10 % m/v de lactosuero, se tienen 16.764 g de lactosa, que equivalen a 17.647 gramos de ácido láctico. Basado en los resultados de la caracterización, se tienen 0.398 gramos de ácido láctico. Aparte, en la fermentación se producirán por lo tanto 17.647 g de ácido láctico, para un total de 18.045 gramos. Siendo la relación estequiométrica teórica de la reacción de 1.076 es decir, que por cada 1 gramo de lactosa que se fermente, se producen 1.076 gramos de ácido láctico. Esto está basado en la Ecuación 21, la reacción de fermentación para convertir lactosa en ácido láctico. Cabe destacar que esta sería la masa de producto que se obtendría si se consumiera todo el sustrato y este se convirtiera completamente en ácido láctico. Sin embargo, hay que considerar factores como el mantenimiento que requiere el microorganismo para su crecimiento y la inhibición que cause la formación del producto en el medio, al modificar el medio en el que se desarrolla el lactobacilo (Lehninger & Cox, 2012). Por ello se busca desarrollar el modelo cinético de la fermentación, ya que este permite un acercamiento más exacto a cómo se consume el sustrato, el desarrollo del microorganismo y la generación de producto.

El segundo objetivo del trabajo de graduación consistió en la cuantificación del consumo de lactosa y producción de ácido láctico en sistemas fermentativos, variando la agitación del medio y regulando el pH con un *buffer* para determinar las condiciones que maximizan el rendimiento de la reacción. Para la fermentación se utilizó como microorganismo fermentador la cepa *Lactobacillus leichmannii*. Durante la selección de la cepa a utilizar para la experimentación, se observó que microorganismos como *Lactobacillus casei* o *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* son cepas comunes que se emplean para estudios relacionados a la producción de ácido láctico para diferentes sustratos. *Lactobacillus leichmannii* tiene la capacidad para fermentar azúcares disacáridos, como la sacarosa o lactosa, así como los monosacáridos y producir ácido láctico de manera eficiente, según exhibió Barillas en 2021 en su estudio de fermentación láctica de melaza, empleando la misma cepa. Weiss *et al* afirma en un estudio de homología genética de 1983 esta facilidad del lactobacilo para el consumo de diversos azúcares. Además de que la cepa demuestra tolerancia a condiciones de pH y temperatura que podrían ser desfavorables para otras cepas, lo que puede resultar en un crecimiento más robusto y consistente. Aparte que, puede requerir menos nutrientes específicos en comparación con otras, simplificando el proceso de fermentación y reducir costos.

Como velocidad de agitación para las corridas se fermentó a 50, 100 y 150 revoluciones por minuto en una agitadora-incubadora marca Lab. Scientific. Con el fin de asegurar una homogenización del sustrato en todo el medio fermentativo. No se empleó una velocidad mayor de agitación dado que la cepa puede entrar en un estado de estrés a causa de las fuerzas de cizallamiento, dañando las células y ocasionar que se inhiba el crecimiento y reproducción o bien, la muerte. Por otro lado, una agitación excesiva puede causar un mezclado intenso del medio, dificultando que los microorganismos se asienten dificultando su capacidad de desarrollo. Ahora bien, una velocidad menor (o nula) de agitación implica que el medio puede no mezclarse adecuadamente, lo que lleva a la formación de capas o zonas con diferentes concentraciones de nutrientes, pH y metabolitos. Esto puede resultar en un entorno desfavorable para el crecimiento de los microorganismos; conocido también como estratificación del medio. Además, la agitación

insuficiente puede limitar la difusión de nutrientes hacia las células y la eliminación de productos de desecho, lo que puede afectar el rendimiento de la fermentación. Si las células no tienen un acceso uniforme a los nutrientes, puede resultar en un crecimiento desigual y en una menor producción de metabolitos deseados, así como incrementar el tiempo de la reacción de la fermentación. Otro punto para considerar es la temperatura empleada, que fue de 38 °C, esta se encuentra dentro del rango favorable para *Lactobacillus leichmannii*. Se programó el equipo a esta temperatura, para evitar que, si esta variara a causa de factores ambientales, no saliera del rango óptimo de la cepa, que es de ± 3 °C del valor indicado.

Para regular el pH, se planteó el uso de un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico, como alternativa a regular la fermentación con una base, por la producción de ácido láctico. Por ello se decidió realizar una serie de fermentaciones empleando esta solución tampón y otra serie que no se utilizara el *buffer*. Para la selección de los componentes de la solución amortiguadora, se contempló que no se utilizaran compuestos que fueran posibles nutrientes para el medio, como lo son los *buffers* que contienen nitrógeno o los de fósforo. De lo contrario, a medida que el microorganismo se desarrollara consumiría el *buffer* y no se tendría el efecto regulador deseado. Otro punto importante fue el pH al que se debía de preparar la solución, puesto que necesitaba estar dentro del rango en el que el microorganismo se puede desarrollar sin problema. La solución se preparó a una concentración total de 0.250 M, preparándose a partir de una solución de ácido clorhídrico marca Supelco, fumante al 37 % de pureza, con molaridad de 0.222 M y otra de ftalato ácido de potasio, marca Supelco, al 99.5 % de pureza, con molaridad de 0.028 M. Una concentración más alta implica el riesgo de que la lactosa se vea afectada por una hidrólisis ácida, por el uso del ácido clorhídrico; separándose en sus monómeros constituyentes, la glucosa y galactosa, afectando la medición de la lactosa en la cromatografía líquida de alta resolución. O bien, que interfiera con la reacción de fermentación y afectar la actividad del microorganismo, lo que podría alterar los resultados experimentales. Ahora bien, una concentración baja de *buffer* puede resultar en una incapacidad para mantener el pH constante durante la fermentación, al momento que se produzca el ácido láctico. Inhibiéndose el crecimiento del microorganismo por el cambio en las condiciones del medio (Lehninger & Cox, 2012).

La cepa *Lactobacillus leichmannii* primero se cultivó en agar MRS marca Sharlau. Permaneciendo en incubación a temperatura de 38 °C por dos semanas para que se desarrollara en el medio sólido. Posteriormente se trasladó a un medio líquido, siendo esta la solución de lactosuero al 10 % m/v que fue previamente filtrada para la remoción de las proteínas. Esta solución fue la primera madre, que se dejó fermentar por una semana en una agitadora marca Lab. Scientific, a una temperatura de 38 °C y una velocidad de agitación de 100 rpm. Luego de que transcurriera este tiempo se inoculó una segunda madre, nuevamente a las condiciones descritas anteriormente y un tiempo de una semana. Este proceso se realizó para asegurar que la cepa *Lactobacillus leichmannii* se adecuara correctamente al medio de la fermentación y no ocasionara un contratiempo en la experimentación. Los inóculos que se extrajeron de esta fermentación se emplearon directamente en las corridas para cada variación de condiciones que este estudio planteó.

Referente a los resultados de las fermentaciones, las Figuras 14, 15 y 16 representan las corridas (en triplicado) realizadas para la fermentación de 200 mililitros de la solución de lactosuero al 10 % m/v, a una temperatura de 38 °C, una velocidad de agitación de 100 rpm y sin emplear el *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Las

concentraciones de sustrato y producto fueron medidas empleando cromatografía líquida de alta resolución en el cromatógrafo con detector de índice de refracción de la Universidad del Valle de Guatemala y la biomasa se midió por peso seco. En las figuras 14, 15 y 16 se observa la concentración de lactosa, ácido láctico y de *Lactobacillus leichmannii* para un tiempo total de 72 horas. Estas muestran un comportamiento errático de los datos (que también se puede apreciar en los Cuadros 72, 73 y 74 del apartado de anexos). Debido a que no se observa un consumo aparente de lactosa, ni producción de ácido láctico. El crecimiento del microorganismo también se vio afectado. De haberse fermentado la solución por otra ruta u otro microorganismo a causa de contaminación cruzada, se habría notado una disminución en la concentración de lactosa a medida que avance el tiempo, sin que existiese un aumento de la concentración de ácido láctico. Esto refleja que la fermentación no se llevó a cabo a las condiciones mencionadas anteriormente. En contraste, las fermentaciones llevadas a cabo con el *buffer* sí presentaron resultados positivos.

Las Figuras 17, 18 y 19 denotan una disminución gradual de la lactosa con el tiempo. Y un aumento tanto de la concentración de *Lactobacillus leichmannii* como del ácido láctico. Para estas fermentaciones se utilizó una temperatura de 38 °C y se empleó un volumen de 150 mililitros de lactosuero mezclado con 50 mililitros del *buffer*, para un volumen total de 200 mL. teniéndose una relación 1:4 es decir, una cuarta parte del volumen total lo conforma el *buffer*. Alcanzándose un pH de 4.75, estando claramente en el rango aceptable por la cepa, según la teoría. En este caso, las fermentaciones a 50 y 100 revoluciones por minuto tuvieron una duración de 72 horas. Sin embargo, fue necesario extrapolar los datos para tiempos de 96 y 192 horas. Debido a que los datos no eran concluyentes respecto a si se había llegado a la fase estacionaria de la fermentación, permaneciendo en lo que aparentaba ser la fase exponencial de la curva de crecimiento bacteriano. Al no tener esta información, se complicaría el desarrollo del modelo cinético de la fermentación, además de no tener claro el rendimiento experimental de la reacción llevada a cabo por la cepa *Lactobacillus leichmannii*. La extrapolación fue posible al tener muestras de la fermentación madre de la cual se extrajo el inóculo para el desarrollo de las demás fermentaciones.

Para la experimentación se realizó primero la fermentación a 100 rpm sin *buffer* y luego con *buffer*. Al contrastar los resultados, se observó que al emplear el *buffer* se tuvo resultados más satisfactorios, ya que, como se indicó anteriormente, la fermentación sin el uso de *buffer* en las tres repeticiones tuvo un comportamiento errático y sin tendencia. Dificultando la extracción de resultados y conclusiones útiles para el estudio. Por lo que se optó por realizar las fermentaciones únicamente con el *buffer* y descartando las fermentaciones a 50 y 150 revoluciones por minuto sin la solución amortiguadora de ftalato de potasio y ácido clorhídrico. Esto también se vio sustentado por los datos de las curvas de las Figuras 18 y 19 que son las fermentaciones con solución tampón a 50 y 150 rpm respectivamente. Implicando que el *buffer* auxilió favorablemente la reacción. Siendo el punto principal el pH más ácido que proporcionó la solución amortiguadora.

Cabe destacar que ambos tipos de fermentación estaban en el rango de pH en el que la cepa se puede desarrollar adecuadamente, que es de 4.0 a 6.0. Iniciando en 5.90 el pH el medio sin el *buffer* y 4.75 con el *buffer*. Probablemente la cercanía al límite superior de este rango afectó el desarrollo de la cepa *Lactobacillus leichmannii* del departamento de ingeniería química de la universidad del Valle de Guatemala, pudiendo estar acostumbrada

a valores más ácidos, que es lo que permitió el *buffer*. La experimentación a 150 rpm se realizó para un tiempo de 192 horas, considerando la falta de datos que se tuvo para las fermentaciones de 50 y 100 rpm. En el caso de estas dos, se tuvo resultados bastante similares, como se puede observar en las gráficas o bien los datos de los Cuadros 75 y 76. Siendo la fermentación a 50 revoluciones por minuto la que produjo mayor cantidad de ácido láctico. Mientras que, la fermentación a 150 rpm no tuvo resultados satisfactorios, a pesar de que se extendió el tiempo de las corridas en triplicado. Una diferencia destacable es la velocidad de agitación que se empleó en cada experimentación. Se observa en las Figuras 17, 18 y 19 que la producción de ácido láctico disminuye conforme aumenta la velocidad de agitación. En la última figura la producción del ácido es mínima, mientras que el consumo de sustrato, la lactosa, sí se mantiene similar que en las otras corridas. Esto puede significar que la cepa consumió los azúcares por el mantenimiento de esta, en otras palabras, únicamente para sobrevivir, no desarrollarse. Como se mencionó anteriormente, una velocidad elevada causa estrés al microorganismo lo que dificulta su crecimiento. Otra posible causa de la disminución del rendimiento de la cepa para producir ácido láctico es que se haya presentado contaminación cruzada, dado que sí hubo consumo de sustrato, a diferencia de las fermentaciones que no emplearon el *buffer*. Dado que la fermentación permaneció más tiempo activa que las demás, aumentando la probabilidad de contaminarse.

Con referencia al Cuadro 11, este ilustra el rendimiento experimental que se tuvo para la fermentación que evidenció mejores resultados. Es decir, la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclado con el *buffer*, temperatura de 38 °C y a una velocidad de agitación de 50 revoluciones por minuto. Siendo estas las condiciones que maximizan el rendimiento de la fermentación, para este estudio en particular. Para un volumen de 150 mililitros se tiene una masa teórica de lactosa de 12.573 gramos, que según la Ecuación 21 se pueden producir 13.235 gramos de ácido láctico, que en conjunto con la concentración inicial de este ácido se tienen adicionales 0.299 gramos. Pudiéndose obtener hasta 13.534 gramos de ácido láctico. Sin embargo, para esta fermentación, a las condiciones indicadas al inicio del párrafo, se produjo únicamente 1.418 gramos de ácido láctico, representando un rendimiento experimental de la fermentación del 10.474%.

Es decir, que por cada 100 gramos que se puedan producir teóricamente de ácido láctico, solo se tendrán 10.474 gramos de forma experimental. En la figura 17 se observa que no se consumió todo el sustrato, lo que podría indicar que había saturación de lactosa en el medio, dificultando el desarrollo de la cepa por inhibición. Otro punto importante es que la cepa no estuviese adecuada completamente al medio en el que se realizó la fermentación. Ocasionando que no se utilice eficientemente los sustratos disponibles, lo que llevaría a una menor producción de metabolitos deseados y, por ende, disminuir el rendimiento de la fermentación, lo que sustenta lo anterior. Viéndose reflejado en un consumo de sustrato en mayor proporción para su mantenimiento, que la formación de ácido láctico. Por otro lado, este ácido puede ocasionar un efecto de inhibición en la cepa, al acidificar el pH se pueden desnaturalizar enzimas y proteínas de la cepa, al afectar su estructura tridimensional y, por ende, su función. Las proteínas de la membrana celular, que son cruciales para el transporte de nutrientes y la formación de energía, pueden perder su funcionalidad, afectando la homeostasis celular. Tampoco hay que descartar la contaminación cruzada o la fermentación de la cepa por otras rutas metabólicas. Dado que, si la cepa no está bien adaptada, podría ser superada por otros microorganismos presentes en el medio, variando los resultados del proceso. Barillas en su estudio de 2021 reportó la

formación de ácido cítrico y dióxido de carbono en el medio como subproductos, que son también productos útiles para la industria. Sin embargo, el alcance de este trabajo estuvo enfocado en la cuantificación de ácido láctico únicamente, sin medir posibles metabolitos secundarios. Pudiendo estos influir en el rendimiento total de la fermentación al haber más productos de los que se contempló en la experimentación, por lo que no puede asegurarse que se haya seguido por completo una ruta homofermentativa, sino existe la posibilidad de una ruta heterofermentativa.

La inhibición por biomasa no representa un factor limitante que sea significativo en el desarrollo experimental de la fermentación. En sistemas de cultivo por lotes para la producción de ácido láctico, la cepa *Lactobacillus leichmannii* se ve afectada principalmente por la inhibición por el producto. En general, la acumulación del ácido láctico acidifica el medio en el que se desarrolla la bacteria, disminuyendo el pH por debajo del rango óptimo de crecimiento del microorganismo, deteniendo su metabolismo antes de que la densidad celular aumente a niveles en los que su concentración pueda saturar el medio y que las células compitan por sustrato o haya impedimento estérico (Weiss et al., 1983; Barillas, 2021).

El rendimiento de la fermentación de 10.474 % obtenido es congruente con las condiciones experimentales referentes a un sistema a nivel laboratorio empleando lactosuero crudo sin una suplementación de nitrógeno externo, un control de pH automatizado y una cepa que no está completamente adecuada al medio. Si bien este valor resulta menor al rendimiento esperado a nivel industrial, el resultado obtenido indica la capacidad de conversión base del sustrato, la lactosa, en su estado natural. En consecuencia, es un resultado que es técnicamente valioso, ya que sirve como punto de partida para futuras optimizaciones al sistema y así mejorar la conversión de lactosa en ácido láctico.

Como tercer objetivo del trabajo de graduación, se buscó desarrollar un modelo cinético de la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v para producir ácido láctico, usando como microorganismo fermentador *Lactobacillus leichmannii*. Con la finalidad de predecir el comportamiento de las concentraciones del crecimiento de la biomasa, el consumo de sustrato y formación de producto con el tiempo. Este modelo resulta ventajoso como una herramienta para identificar tanto alcances como limitaciones del sistema en las condiciones que se operó. Por ende, permite explorar posibles oportunidades de mejora que se puedan aplicar al proceso en investigaciones futuras, así como escalar el proceso a nivel industrial. Por ello es necesario analizar las especies que participan en la fermentación para la producción de ácido láctico. No solo analizando cómo se forma el producto sino también el consumo que se tiene del sustrato, que en este caso es la lactosa contenida en el lactosuero y finalmente el crecimiento de la bacteria que conlleva la fermentación. La base de este modelo son los resultados obtenidos del primer y segundo objetivo, al conocer la concentración inicial de sustrato y producto (cuando se tiene). Así como los resultados experimentales a nivel laboratorio de la fermentación, acoplando el modelo cinético a los comportamientos observados durante la experimentación. Empleando los datos que se observan en la Figura 18, en la cual se ilustra la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v empleando un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico a una velocidad de agitación de 50 revoluciones por minuto. Que nuevamente, evidenció los mejores resultados de las diferentes condiciones a las que se fermentó.

Inicialmente se planteó utilizar el modelo de Monod para modelar el crecimiento de la biomasa con el tiempo. Sin embargo, no se logró determinar con éxito parámetros de la tasa de crecimiento máxima del microorganismo y constante de afinidad de sustrato que se acoplaran adecuadamente a los datos experimentales. Cabe destacar que, este es un modelo simple y para que este funcione, se asume que el crecimiento microbiano depende únicamente de la concentración de un solo sustrato. Lo que puede no reflejar la complejidad de sistemas biológicos donde múltiples sustratos están presentes. También no considera la inhibición por sustratos a altas concentraciones, ya que asume que el crecimiento continúa indefinidamente a medida que aumenta la concentración de sustrato. Al igual que no toma en cuenta la dinámica del crecimiento a lo largo del tiempo, como la fase lag o la fase de muerte celular, que pueden ser importantes en fermentaciones reales. Por lo que se buscó otra alternativa a este modelo. Barillas en 2021 definió un modelo para las curvas de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii* y formación de ácido láctico a partir de melaza, basado en las ecuaciones de Amrane y Prigent en 1994. Este involucra coeficientes constantes que corrigen las curvas por inhibición y transferencia de masa del lactobacilo y la generación de producto. Al ser la cepa empleada en la experimentación similar a la de Barillas, teniéndose ácido láctico como resultado de la fermentación, solo variando el sustrato a fermentar; se optó por emplear este modelo para generar las ecuaciones de las curvas.

Para desarrollar el modelo se empleó el software Berkeley Madonna, un programa útil para graficar funciones, ecuaciones diferenciales o cinéticas de reacciones, empleando el método de Runge-Kutta 4. Importando el set de datos de la Figura 18 (Cuadro 76) y planteando las Ecuaciones R1, R2 y R3 correspondientes a la formación de ácido láctico, crecimiento de la biomasa y el consumo de lactosa. También se utilizó la función de ajuste de curvas para tener una aproximación de los parámetros que permitieron adecuar las ecuaciones mencionadas con anterioridad a los datos experimentales. Provenientes de la fermentación de lactosuero a 50 revoluciones por minuto, 38 °C de temperatura y empleando el *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Incluyendo el programa el error cuadrático medio entre los datos importados y la curva generada. La curva de formación de ácido láctico que se observa en la Figura 20, está dada por la Ecuación R4. Obteniéndose valores para los parámetros de la función. La tasa de formación específica obtuvo un valor de 0.01732 h^{-1} , el coeficiente constante de inhibición A de 11.50141 g/L y los coeficientes constantes B y C, originales del modelo de Amrane y Prigent de $6.81040 \cdot 10^{-8} \text{ h}^{-1}$ y 0.08855 h^{-1} , respectivamente. El término A en la ecuación plantea una corrección por transferencia de masa por remoción del producto en la célula del lactobacilo.

En cuanto a la curva de crecimiento de biomasa que se observa en la Figura 21, esta se modeló a partir de la Ecuación R5 de la sección de resultados. Se obtuvo entre los parámetros 0.02190 h^{-1} como velocidad específica máxima de crecimiento microbiano, 7.53460 g/L como la concentración máxima de ácido láctico antes de que sea inhibido por este. Al observar los datos del Cuadro 76 y la Figura 18, la concentración de ácido láctico ya no aumenta significativamente después del valor mencionado anteriormente. Comenzando la etapa de desaceleración, previa a la etapa estacionaria. Esto a su vez se ve reflejado en la curva de crecimiento microbiano original (Figura 18). Los valores D y F fueron de 0.02440 L/g y 0.94470 L/g respectivamente. Estos al estar multiplicados por la concentración de la biomasa, funcionan como una corrección por transferencia de masa, por disminución de la velocidad enzimática de la bacteria, a causa de la formación de ácido láctico y la acidificación del medio. El coeficiente constante E fue de 0.21530 L/g , que es

un término original del modelo de Amrane y Prigent. Por otro lado, G tuvo un valor de 544.89650 h, mejor expresado como $54.48965 \cdot 10$ h, el cual representa el tiempo en alcanzar μ_{\max} (la tasa de crecimiento específica máxima) luego de la fase de latencia (o fase lag). Este valor hace sentido, ya que al observar la Figura 18 o bien la Figura 20, luego de este tiempo la curva de crecimiento microbiano entra en fase exponencial, donde se alcanza la tasa específica máxima de crecimiento del lactobacilo.

Ahora bien, con la curva de consumo de lactosa, está la representa la Ecuación R6, siendo este el balance de materia de la reacción de fermentación. Esta disminución en la concentración del sustrato está dada por el uso de la lactosa por parte del lactobacilo para su mantenimiento, crecimiento y la formación de ácido láctico, como está indicado en la Ecuación R1. El término H es la constante de mantenimiento, esta tuvo un valor de $1.47780 \cdot 10^{-5}$, siendo adimensional. Los coeficientes constantes $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ y $Y_{P/X}$ son rendimientos entre el sustrato, biomasa y producto. El primero es un rendimiento de biomasa frente a sustrato, es decir, lo que crece el microorganismo por consumo de sustrato. El segundo es el rendimiento de producto frente a sustrato y el último es el rendimiento de producto frente a la biomasa; todos estos son adimensionales. Se obtuvo valores de 0.87374, 0.78802 y 0.01253 respectivamente. Cabe resaltar que tanto en la Figura 17 como 18, la curva de crecimiento de biomasa y la formación de producto exhiben un comportamiento asociado, es decir, que al momento en que el lactobacilo crece, de igual forma está produciendo ácido láctico, reflejando la misma tendencia en las curvas. Por ello el término Q_p en la ecuación R6 puede ser escrito de dos formas, uno en términos de la curva de crecimiento microbiano y la otra en términos del producto, siempre asociados con el coeficiente de rendimiento $Y_{P/X}$. La curva de la Figura 20 se modeló empleando Q_p en función de la expresión de generación de ácido láctico, mientras que en la Figura 45 del apartado de anexos está modelado en términos del crecimiento de la biomasa, denotando en la curva de consumo de lactosa una diferencia insignificante entre ambas formas de modelado. Sin embargo, no se modeló la curva de formación de ácido láctico a partir de la curva del desarrollo de la biomasa, sino que se optó por tener dos ecuaciones distintas (R2 y R3). Para evitar acarrear el error de la curva del crecimiento bacteriano a la otra, ya que a pesar de que tienen una tendencia similar, esta no es idéntica.

El error cuadrático medio (RMSE) para la curva de formación de biomasa, crecimiento microbiano y el consumo de lactosa fue de 0.55300, 0.51547 y 1.88275 respectivamente. Denotando que el modelo que se generó para la disminución de sustrato tuvo el error más alto de las tres ecuaciones y que menos se adapta a los datos experimentales de la fermentación. Lo cual se observa en los datos iniciales de 5 minutos hasta las 24 horas. Algo a destacar es que en este modelo no se consideró el dato inicial en el que la concentración de lactosa es de 83.820 g/L, proveniente de la caracterización. Se observa en las figuras de resultados de todas las fermentaciones (Figuras 14 a la 19) es que la concentración de lactosa a partir de 5 minutos (que fue la primera medición) se encuentra alrededor de 60 g/L, en tiempos posteriores no disminuye significativamente hasta pasados días de la fermentación. Haciendo este un cambio atípico en la concentración de lactosa, dado que el microorganismo es poco probable que la haya consumido en un tiempo reducido. Una posible explicación a esto es la hidrólisis de la lactosa por la temperatura a la que se sometió en la autoclave (121 °C) al momento de su esterilización, provocando la ruptura del enlace glucosídico del disacárido y produciendo sus monómeros constituyentes, la glucosa y galactosa. Si bien la cepa *Lactobacillus leichmannii* puede fermentar estos azúcares y seguir produciendo ácido láctico, esto afecta la cuantificación de lactosa, siendo

una fuente de error considerable en la experimentación.

Además, hay que considerar que la curva de consumo de lactosa depende de las curvas de crecimiento de biomasa y de la formación de producto, según el balance de masa establecido en la Ecuación R6, por lo que el error de las otras curvas también se ve reflejado en esta. En cuanto a la curva del desarrollo del microorganismo, los datos en las Figuras 14 a 19 exhiben que algunos puntos de medición oscilan ligeramente, afectando la tendencia creciente de las curvas. Esto se debe a la metodología empleada para la cuantificación de biomasa, realizada por peso seco. Por disponibilidad de equipo se optó por este procedimiento, pero una desventaja es que este método no permite diferenciar entre células viables y no viables, es decir no reconoce si las células están vivas o muertas. Por lo tanto, no proporciona información sobre la capacidad de crecimiento o actividad metabólica de los microorganismos. También, materia orgánica o inorgánica se puede acumular al momento de centrifugar, interfiriendo con la medición de la biomasa y haciendo que los resultados sean inexactos. Por ello se realizó la separación de las proteínas para tener una medición más precisa y exacta de la biomasa de la fermentación.

Como aspectos a considerar para futuras investigaciones, con el objetivo de mejorar la cinética propuesta en este trabajo de graduación, primero, considerar las características de los nutrientes presentes en el lactosuero y si es necesario enriquecerlo. Así como el efecto que tendrían los precipitados de proteína en el medio fermentativo. La fermentación según la teoría se realiza de forma anaeróbica, es decir, que no requiere de oxígeno para que esta se lleve a cabo. Sin embargo, dado las limitaciones del sistema y equipo, no se puede asegurar que se haya trabajado en condiciones completamente anaeróbicas. Por lo que se puede ver afectado el proceso al inhibir el crecimiento y actividad metabólica de la cepa *Lactobacillus leichmannii*. O que exista competencia con microorganismos aerobios y se generen otros productos como dióxido de carbono y ácido acético. Pudiéndose estudiar en cómo estos factores modifican la transferencia de masa de la fermentación, el crecimiento y supervivencia del lactobacilo.

Otro aspecto que se puede profundizar es la caracterización y purificación del producto y caldo fermentativo final generado, considerando que se empleó el *buffer* de ftalato de potasio y ácido clorhídrico para la obtención de los resultados. La caracterización por su parte permite identificar otros metabolitos generados durante el proceso de fermentación, que pueden ser de interés para la industria como ácidos orgánicos, sales u otros compuestos. Teniéndose como finalidad obtener un producto (o productos) útil y de valor en la purificación, según el tipo de industria que lo utilice, así como definir un uso para el producto residual que se generó durante el proceso, con el fin de cumplir con una economía circular. El ácido láctico, como se describió en el marco teórico, es ampliamente utilizado por farmacéuticas, cosméticas, para fabricación de polímeros, industrias de alimentos, entre otras. Los subproductos generados, las proteínas separadas previas a la fermentación y la mezcla del fermento residual también pueden ser utilizadas en otros procesos para aprovechar sus propiedades y no solo desecharlos. Las proteínas por su parte pueden ser empleadas por sus propiedades tecnofuncionales (para gelificación y emulsificación) y nutricionales, siendo útiles para la formulación de alimentos funcionales o suplementos proteicos de alta digestibilidad (Gezini et al., 2022). En cuanto a la mezcla de fermento remanente, conformado por *Lactobacillus leichmannii*, sales de *buffer* y suero fermentado tiene utilidad y valor en la agricultura. Esta mezcla puede emplearse como un inóculo para la producción de ensilajes, actuando la biomasa como un agente

biopreservante, fomentando la acidificación del forraje y mejorar la estabilidad aeróbica. Las sales del *buffer* y lactato también aportan nutrientes esenciales que favorecen el metabolismo microbiano en procesos de digestión anaerobia en procesos de generación de biogás (Cerna-Cock et al., 2015).

Finalmente, lo anterior se puede acoplar a otro enfoque de análisis, como lo es escalar la fermentación a nivel industrial, planteando diferentes escalas fermentativas, así como evaluar el impacto que se tenga en la transferencia de masa y energía del volumen que se trate. O el rendimiento final que se tenga al modificar el proceso y emplear un tipo diferente de reactor, por ejemplo, de flujo de pistón (PFR) o un reactor de flujo constante continuamente agitado (CSTR), contrastándolo con los resultados obtenidos en este trabajo. A nivel industrial, una diferencia al actual proceso desarrollado en la experimentación sería la eliminación del proceso de filtrado para la separación de las proteínas. Como se discutió anteriormente, las proteínas se pueden emplear como un suplemento de nitrógeno para el lactobacilo, promoviendo su crecimiento y desarrollo. Al no realizarse la filtración también se elimina una de las dos etapas de autoclaveado, representando un ahorro económico, energético y de tiempo al momento de realizar la fermentación a mayor escala.

IX. CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo de realizar la caracterización de la materia prima, tanto las propiedades como sólido, que es el porcentaje de humedad y cenizas que se observa en los Cuadros 1 y 2. Así como en la solución al 10 % m/v empleada para la fermentación, como la densidad, el pH, el porcentaje de grasas y proteínas de la solución, junto con el contenido de lactosa y ácido láctico, que se ven reflejados los resultados en los Cuadros 4, 5, 6, 7, 8 y 9. Estas características físicoquímicas proveen información esencial acerca de los componentes de la muestra, así como los posibles tratamientos que haya que aplicar en el caso de las impurezas constituyentes.

La caracterización de la muestra de lactosuero indicó que se tiene una concentración de sustrato inicial de $8.38205 \% \pm 0.00004 \%$ m/v de lactosa y de producto de $0.19912 \% \pm 0.00004 \%$ de ácido láctico para el medio fermentado de solución de lactosuero al 10 % m/v. Con una relación estequiométrica de 1.076 (gramo de ácido láctico producido por gramo de lactosa consumido).

Se obtuvo un rendimiento experimental de la fermentación del 10.474 %, que indica que por cada 100 gramos de lactosa que se fermenten, se producen experimentalmente 10.474 gramos de ácido láctico. Para las fermentaciones realizadas a una velocidad de agitación de 50 revoluciones por minuto, temperatura de 38 °C y empleando una mezcla 1:4 de *buffer*-lactosuero al 10 % m/v. Siendo estas las condiciones que más favorecieron el rendimiento de la fermentación de lactosuero para producir ácido láctico, empleando la cepa *Lactobacillus leichmannii*.

Se obtuvo el modelo cinético que permite acoplar los datos experimentales de la fermentación de lactosuero al 10 % m/v a una velocidad de agitación de 50 revoluciones por minuto, 38 °C de temperatura y empleando un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. En este se modela la formación de ácido láctico, el crecimiento de la cepa *Lactobacillus leichmannii* y el consumo de lactosa en el tiempo de fermentación. Las ecuaciones que permiten modelar la cinética son las Ecuaciones R4, R5 y R6 respectivamente, graficadas en la Figura 20, que se encuentran en el apartado de resultados.

X. RECOMENDACIONES

Se sugiere cuantificar los nutrientes contenidos en el lactosuero y determinar el efecto que tiene el oxígeno disuelto en el medio fermentativo. Para identificar cómo estos factores interactúan con la cepa *Lactobacillus leichmannii* en su desarrollo y crecimiento, modifican la cinética de la fermentación y la transferencia de masa del proceso. Con el objeto de mejorar la propuesta hecha del modelo cinético de la fermentación.

Dado que el ácido láctico es un producto de alto valor a nivel mundial, es pertinente la realización de un estudio para la purificación del ácido láctico producido en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclado con un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Así como otros productos residuales que se hayan formado en la reacción que sean de interés para la industria, fomentando la economía circular del proceso.

Se recomienda realizar un estudio tomando como base las condiciones de fermentación empleadas para la experimentación de este trabajo de graduación y las expresiones del modelo cinético de la reacción. Donde se comparen distintas escalas fermentativas, evaluando el impacto que tenga la transferencia de masa y energía en el volumen tratado. Determinando el rendimiento final que se tenga al modificar el proceso o por el tipo de reactor que se emplee.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, D. et al. (2016). *Estadística para negocios y economía*. 12ª ed. Ed. Cengage Learning, México.
- Amrane, A. & Prigent, Y. (1994). *Mathematical model for lactic acid production from lactose in batch culture: Model development and simulation*. Journal of Chemistry, Technology and Biotechnology. 60 (1994) 241-246.
- AOAC International. (2019). *Official Method 990.20: Solids (Total) in Milk*. En *Official Methods of Analysis of AOAC International*.
- ASTM International. (2021). *ASTM D1576-21: Standard Test Method for Moisture in Wool by Oven-Drying*. West Conshohocken, Pensilvania, Estados Unidos.
- Barillas, A. (2021). *Cinética de reacción para la síntesis fermentativa de ácido láctico usando melaza de caña de azúcar mediante la utilización de Lactobacillus leichmannii*. Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.
- Bulteh 2000. (2024). *Ultrasonic Milk Analyzers*. Obtenido de: <https://bulteh.com/milk-analyzers-ekomilk.html>
- Cabra, C. & Rodríguez, F. (1 de enero de 2006). *Evaluación de la producción de ácido láctico elaborado a partir de la fermentación del suero lácteo*. Facultad de Ingeniería. Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
- Central America Data (CAD). (17 de junio de 2021). *Lácteos: Comercio regional creció 7% en 2020*. Obtenido de: https://www.centralamericadata.com/es/article/home/Lcteos_Comercio_regional_cre_ci_7_en_2020
- Collins, S. & Blennerhassett, P. (s.f.). *Standard Operating Procedure for Autoclave Operation*.
- Datta, R., Tsai, S., Bonsignore, P., Moon, S. & Frank, J. (1995). *Technological and economic potential of poly (lactic acid) and lactic acid derivatives*. FEMS Microbiology Reviews, ELSEVIER. 16 (1995)221-231.
- Felder, R., Rousseau, R. & Bullard, L. (2018). *Principios elementales de los procesos químicos*. 4ª ed. Ed. Limusa. México.
- Gezini, G., Rocha, C. & Silva, M. (2022). *Technological and nutritional properties of whey proteins: A review*. Journal of Dairy Science & Technology, 102(4), 315-332.
- Guerrero, W., Gomez, C., Castro, J., González, C. & Santos, E. (28 de mayo de 2010). *Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el valle de Tulancingo*. Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Grand View Research (GVR). (2022). *Lactic Acid Market Size, Share & Trends Analysis Report By Raw Material (Sugarcane, Corn, Cassava), By Application (PLA, Food & Beverages, Personal Care, Pharmaceuticals), By Region, And Segment Forecasts, 2022 – 2030*. Report ID: 978-1-68038-126-9. PP 130.
- Grupo Pochteca. (2022). *Ácido láctico*. Obtenido de: <https://mexico.pochteca.net/productos/acido-lactico/>

- Hofvendahl, K. & Hahn-Hägerdal, B. (15 de febrero de 1999). *Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable sources*. Lund University, Sweden. ELSEVIER. *Enzyme and Microbial Technology*. 26 (2000) 87-107.
- König, H., Unden, G. & Fröhlich, J. (2017). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine || Lactic Acid Bacteria*. 10.1007/978-3-319-60021-5 (Chapter 1), 3–41. doi:10.1007/978-3-319-60021-5_1.
- Lehninger, D. & Cox, M. (2012). *Principles of Biochemistry*. 6ª ed. Ed. Freeman, W.H. & Company, New York, United States of America.
- Levenspiel, O. (1999). *Chemical Reaction Engineering*. 3ª ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, United States of America.
- Levine, I. (2014). *Principios de fisicoquímica*. 6ª ed. Ed. McGraw-Hill. Distrito Federal de México, México.
- Marcoline, F., Grabe M., Nayak, S., Zahnley, T., Oster, G. & Macey, R. (28 de febrero de 2021). *Berkeley Madonna User's Guide*. Versión 10.2.6. Obtenido de: <https://www.berkeleymadonna.com>.
- Martínez, A. (Abril de 2014). *Identificación de los parámetros de mayor representatividad en la descarga de aguas residuales del sector industrial de lácteos según el A G 236-2006 y propuesta de unidades de tratamiento para su reducción*. Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Ministerio de Economía (MINECO). (31 de mayo de 2019). *Guatemala conmemora Día Mundial de la Leche*. Gobierno de Guatemala, Guatemala. Obtenido de: <https://www.mineco.gob.gt/guatemala-conmemora-d%C3%ADa-mundial-de-la-leche#:~:text=Actualmente%20en%20el%20pa%C3%ADs%20se,y%20cabra%20en%20el%20pa%C3%ADs>.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). (2022). *Síntomas y causas de la intolerancia a la lactosa*. National Institutes of Health, gobierno de Estados Unidos, Estados Unidos. Obtenido de: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-digestivas/intolerancia-lactosa/sintomas-causas>
- Pérez, R. (22 de julio de 2021). *MAGA promueve la industria lechera en la región*. *Diario de Centro América*. Gobierno de Guatemala, Guatemala. Obtenido de: <https://dca.gob.gt/noticias-guatemala-diario-centro-america/maga-promueve-la-industria-lechera-en-la-region/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2022). *Calidad y evaluación*. Portal lácteo. Obtenido de: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/calidad-y-evaluacion/es/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2022). *Composición de la leche*. Portal lácteo. Obtenido de: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2011). *Proceso para la elaboración de productos lácteos*. Proyecto GCP/GUA/012/SPA, II fase.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2022). *Tipos y características*. Portal lácteo. Obtenido de: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>
- Rojas, A., Montaña, L. & Bastidas, M. (17 de noviembre de 2015). *Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando Lactobacillus delbrueckii, subsp. bulgaricus y Streptococcus thermophilus*. Grupo Energías Alternativas y Biomasa, Universidad del César, Sede Hurtado, Grupo Desarrollo de Estudios y Tecnologías Ambientales del Carbono y Universidad de la Guajira. Colombia.
- Salinas, E. & Pantaleón, I. (12 de julio de 2022). *El sector lácteo en Guatemala, una oportunidad de desarrollo*. Forbes Centroamérica. Obtenido de: <https://forbescentroamerica.com/2022/07/12/el-sector-lacteo-en-guatemala-una-oportunidad-de-desarrollo>
- Serna-Cock, L., Méndez-Castillo, A. & Rengifo-Guerrero, J. (2015). *Aprovechamiento de subproductos de la fermentación láctica para la producción de ensilajes*. Revista de investigación Agraria y Ambiental (RIAA), 6(1), 165-176,
- Skoog, D., West, D., Holler, F. & Crouch, S. (2015). *Fundamentos de química analítica*. 9ª ed. Ed. Cengage Learning, Distrito Federal de México, México.
- Smith, J., Van Ness, H., Abbott, M., Swihart, M. (2018). *Introducción a la termodinámica en ingeniería química*. 8ª ed. Ed. McGraw-Hill, Ciudad de México, México.
- Wee, Y., Kim, J. & Ryu, H. (2006). *Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications*. Chonnan National University, Republic of Korea. Food Technol Biotechnol 44 (2006) 163-172.
- Weiss, N., Schillinger, U., & Kandler, O. (1983). *Lactobacillus lactis, Lactobacillus leichmannii and Lactobacillus bulgaricus, Subjective Synonyms of Lactobacillus delbrueckii, and Description of Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis comb. nov. and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus comb. nov. Systematic and Applied Microbiology*. 4(4), 552–557. doi:10.1016/s0723-2020(83)80012-5.

XII. ANEXOS

A. Datos originales

Cuadro 12: Pesos de los beakers de 100 mL individuales, con la muestra de lactosuero y el volumen de aforo para la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

No. Solución	Peso beaker (g)	Peso beaker + muestra lactosuero 1 (g)	Peso beaker + muestra lactosuero 2 (g)	Volumen de aforo (mL)
1	81.270 ± 0.001	159.102 ± 0.001	103.442 ± 0.001	1000.0 ± 0.3
2	81.272 ± 0.001	131.839 ± 0.001	130.707 ± 0.001	1000.0 ± 0.3
3	60.122 ± 0.001	117.216 ± 0.001	103.246 ± 0.001	1000.0 ± 0.4
4	60.129 ± 0.001	120.965 ± 0.001	99.301 ± 0.001	1000.0 ± 0.4

Cuadro 13: pH de la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió

No. de medición	pH	Temperatura (°C)
1	5.93 ± 0.01	38.2 ± 0.1
2	5.93 ± 0.01	38.0 ± 0.1
3	5.91 ± 0.01	37.8 ± 0.1
4	5.91 ± 0.01	37.9 ± 0.1

Cuadro 14: pH de la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió

No. de medición	pH	Temperatura (°C)
1	5.93 ± 0.01	37.8 ± 0.1
2	5.93 ± 0.01	37.9 ± 0.1
3	5.93 ± 0.01	38.3 ± 0.1
4	5.96 ± 0.01	38.1 ± 0.1

Cuadro 15: pH de la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió

No. de medición	pH	Temperatura (°C)
1	5.91 ± 0.01	38.1 ± 0.1
2	5.90 ± 0.01	37.9 ± 0.1
3	5.91 ± 0.01	38.1 ± 0.1
4	5.92 ± 0.01	38.0 ± 0.1

Cuadro 16: pH de la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v y la temperatura a la que se midió

No. de medición	pH	Temperatura (°C)
1	5.83 ± 0.01	38.2 ± 0.1
2	5.85 ± 0.01	38.1 ± 0.1
3	5.84 ± 0.01	38.1 ± 0.1
4	5.83 ± 0.01	38.2 ± 0.1

Cuadro 17: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Proteína (% m/v)	Grasa (% m/v)	Densidad (g/mL)
1	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
2	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
3	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
4	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005

Cuadro 18: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Proteína (% m/v)	Grasa (% m/v)	Densidad (g/mL)
1	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
2	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
3	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
4	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005

Cuadro 19: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Proteína (% m/v)	Grasa (% m/v)	Densidad (g/mL)
1	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
2	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
3	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
4	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005

Cuadro 20: Porcentaje de proteína, grasa y densidad en la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Proteína (% m/v)	Grasa (% m/v)	Densidad (g/mL)
1	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
2	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
3	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005
4	0.13 ± 0.02	0.00 ± 0.01	1.0210 ± 0.0005

Cuadro 21: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	8.43170 ± 0.00001	0.10786 ± 0.00001
2	8.20694 ± 0.00001	0.07499 ± 0.00001
3	8.39665 ± 0.00001	0.17973 ± 0.00001
4	8.45015 ± 0.00001	0.15453 ± 0.00001

Cuadro 22: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 2 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	8.42483 ± 0.00001	0.16586 ± 0.00001
2	8.35740 ± 0.00001	0.12091 ± 0.00001
3	8.49719 ± 0.00001	0.10973 ± 0.00001
4	8.36526 ± 0.00001	0.16387 ± 0.00001

Cuadro 23: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 3 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	8.62075 ± 0.00001	0.22155 ± 0.00001
2	8.43074 ± 0.00001	0.23651 ± 0.00001
3	8.46814 ± 0.00001	0.25716 ± 0.00001
4	8.74315 ± 0.00001	0.23425 ± 0.00001

Cuadro 24: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la solución 4 de lactosuero al 10 % m/v

No. de medición	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	8.08339 ± 0.00001	0.25350 ± 0.00001
2	8.29129 ± 0.00001	0.21455 ± 0.00001
3	8.13953 ± 0.00001	0.42267 ± 0.00001
4	8.20564 ± 0.00001	0.26823 ± 0.00001

Cuadro 25: Pesos de los beakers de 50 mL individuales y con la muestra de lactosuero húmeda y seca para la medición de la humedad del lactosuero en polvo

No. muestra	Peso beaker (g)	Peso beaker + muestra lactosuero (g)	Peso beaker + muestra lactosuero seca (g)
1	29.174 ± 0.001	34.176 ± 0.001	34.067 ± 0.001
2	29.346 ± 0.001	34.348 ± 0.001	34.249 ± 0.001
3	31.473 ± 0.001	36.481 ± 0.001	36.379 ± 0.001
4	30.866 ± 0.001	35.870 ± 0.001	35.768 ± 0.001

Cuadro 26: Pesos de los crisoles individuales, con la muestra de lactosuero y la muestra calcinada para la medición de la humedad del lactosuero en polvo

No. muestra	Crisol (g)	Peso crisol + muestra lactosuero (g)	Peso crisol + muestra lactosuero calcinada (g)
1	23.922 ± 0.001	28.927 ± 0.001	25.534 ± 0.001
2	17.604 ± 0.001	22.605 ± 0.001	19.145 ± 0.001
3	18.996 ± 0.001	23.998 ± 0.001	20.464 ± 0.001
4	17.202 ± 0.001	22.204 ± 0.001	18.742 ± 0.001

Cuadro 27: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.46512 ± 0.00001	0.14395 ± 0.00001
2	10	0.167	6.51183 ± 0.00001	0.14326 ± 0.00001
3	15	0.25	6.42072 ± 0.00001	0.14109 ± 0.00001
4	30	0.5	6.41347 ± 0.00001	0.13898 ± 0.00001
5	60	1	6.53145 ± 0.00001	0.14250 ± 0.00001
6	120	2	6.51193 ± 0.00001	0.13521 ± 0.00001
7	240	4	6.55845 ± 0.00001	0.14233 ± 0.00001
8	480	8	6.59989 ± 0.00001	0.14330 ± 0.00001
9	720	12	6.53879 ± 0.00001	0.14271 ± 0.00001
10	1440	24	6.57574 ± 0.00001	0.13941 ± 0.00001
11	2880	48	6.84605 ± 0.00001	0.14532 ± 0.00001
12	4320	72	7.24824 ± 0.00001	0.15185 ± 0.00001

Cuadro 28: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.111 ± 0.001	7.123 ± 0.001
2	10	0.167	7.423 ± 0.001	7.435 ± 0.001
3	15	0.25	7.158 ± 0.001	7.174 ± 0.001
4	30	0.5	7.464 ± 0.001	7.477 ± 0.001
5	60	1	7.158 ± 0.001	7.179 ± 0.001
6	120	2	7.464 ± 0.001	7.471 ± 0.001
7	240	4	7.158 ± 0.001	7.168 ± 0.001
8	480	8	7.464 ± 0.001	7.472 ± 0.001
9	720	12	7.158 ± 0.001	7.169 ± 0.001
10	1440	24	7.464 ± 0.001	7.473 ± 0.001
11	2880	48	7.158 ± 0.001	7.170 ± 0.001
12	4320	72	7.464 ± 0.001	7.483 ± 0.001

Cuadro 29: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.49462 ± 0.00001	0.13447 ± 0.00001
2	10	0.167	6.50037 ± 0.00001	0.12334 ± 0.00001
3	15	0.25	6.42899 ± 0.00001	0.13796 ± 0.00001
4	30	0.5	6.44250 ± 0.00001	0.13647 ± 0.00001
5	60	1	6.50354 ± 0.00001	0.13396 ± 0.00001
6	120	2	6.49054 ± 0.00001	0.13344 ± 0.00001
7	240	4	6.50071 ± 0.00001	0.12417 ± 0.00001
8	480	8	6.46354 ± 0.00001	0.12354 ± 0.00001
9	720	12	6.44395 ± 0.00001	0.12012 ± 0.00001
10	1440	24	6.46871 ± 0.00001	0.09540 ± 0.00001
11	2880	48	6.42412 ± 0.00001	0.06449 ± 0.00001
12	4320	72	6.51358 ± 0.00001	0.12504 ± 0.00001

Cuadro 30: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.194 ± 0.001	7.205 ± 0.001
2	10	0.167	7.363 ± 0.001	7.378 ± 0.001
3	15	0.25	7.213 ± 0.001	7.231 ± 0.001
4	30	0.5	7.411 ± 0.001	7.432 ± 0.001
5	60	1	7.213 ± 0.001	7.226 ± 0.001
6	120	2	7.411 ± 0.001	7.422 ± 0.001
7	240	4	7.213 ± 0.001	7.223 ± 0.001
8	480	8	7.411 ± 0.001	7.419 ± 0.001
9	720	12	7.213 ± 0.001	7.222 ± 0.001
10	1440	24	7.411 ± 0.001	7.419 ± 0.001
11	2880	48	7.213 ± 0.001	7.224 ± 0.001
12	4320	72	7.411 ± 0.001	7.426 ± 0.001

Cuadro 31: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.68583 ± 0.00001	0.13588 ± 0.00001
2	10	0.167	6.68022 ± 0.00001	0.12149 ± 0.00001
3	15	0.25	6.60651 ± 0.00001	0.11799 ± 0.00001
4	30	0.5	6.56461 ± 0.00001	0.12143 ± 0.00001
5	60	1	6.64823 ± 0.00001	0.11937 ± 0.00001
6	120	2	6.65395 ± 0.00001	0.11895 ± 0.00001
7	240	4	6.71768 ± 0.00001	0.12163 ± 0.00001
8	480	8	6.70422 ± 0.00001	0.12077 ± 0.00001
9	720	12	6.57122 ± 0.00001	0.11884 ± 0.00001
10	1440	24	6.56592 ± 0.00001	0.12210 ± 0.00001
11	2880	48	6.63363 ± 0.00001	0.11777 ± 0.00001
12	4320	72	6.73000 ± 0.00001	0.13342 ± 0.00001

Cuadro 32: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.183 ± 0.001	7.199 ± 0.001
2	10	0.167	7.099 ± 0.001	7.113 ± 0.001
3	15	0.25	7.221 ± 0.001	7.241 ± 0.001
4	30	0.5	7.167 ± 0.001	7.182 ± 0.001
5	60	1	7.221 ± 0.001	7.241 ± 0.001
6	120	2	7.167 ± 0.001	7.191 ± 0.001
7	240	4	7.221 ± 0.001	7.239 ± 0.001
8	480	8	7.167 ± 0.001	7.185 ± 0.001
9	720	12	7.221 ± 0.001	7.239 ± 0.001
10	1440	24	7.167 ± 0.001	7.184 ± 0.001
11	2880	48	7.221 ± 0.001	7.244 ± 0.001
12	4320	72	7.167 ± 0.001	7.191 ± 0.001

Cuadro 33: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	5.84574 ± 0.00001	0.24748 ± 0.00001
2	30	0.5	5.81901 ± 0.00001	0.24806 ± 0.00001
3	60	1	5.79775 ± 0.00001	0.25251 ± 0.00001
4	120	2	5.78130 ± 0.00001	0.25638 ± 0.00001
5	240	4	5.77587 ± 0.00001	0.25821 ± 0.00001
6	480	8	5.70439 ± 0.00001	0.25442 ± 0.00001
7	720	12	5.66756 ± 0.00001	0.25806 ± 0.00001
8	1440	24	5.61799 ± 0.00001	0.27832 ± 0.00001
9	2880	48	5.60816 ± 0.00001	0.30635 ± 0.00001
10	4320	72	5.56613 ± 0.00001	0.73105 ± 0.00001

Cuadro 34: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.158 ± 0.001	7.176 ± 0.001
2	30	0.5	7.464 ± 0.001	7.485 ± 0.001
3	60	1	7.158 ± 0.001	7.179 ± 0.001
4	120	2	7.464 ± 0.001	7.486 ± 0.001
5	240	4	7.158 ± 0.001	7.179 ± 0.001
6	480	8	7.464 ± 0.001	7.485 ± 0.001
7	720	12	7.158 ± 0.001	7.179 ± 0.001
8	1440	24	7.464 ± 0.001	7.487 ± 0.001
9	2880	48	7.158 ± 0.001	7.184 ± 0.001
10	4320	72	7.464 ± 0.001	7.517 ± 0.001

Cuadro 35: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.09050 ± 0.00001	0.24215 ± 0.00001
2	480	8	5.78409 ± 0.00001	0.24481 ± 0.00001
3	1440	24	5.66756 ± 0.00001	0.25245 ± 0.00001
4	4320	72	5.61799 ± 0.00001	0.70702 ± 0.00001

Cuadro 36: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.213 ± 0.001	7.229 ± 0.001
2	480	8	7.411 ± 0.001	7.431 ± 0.001
3	1440	24	7.411 ± 0.001	7.438 ± 0.001
4	4320	72	7.411 ± 0.001	7.460 ± 0.001

Cuadro 37: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.03616 ± 0.00001	0.24451 ± 0.00001
2	480	8	5.79872 ± 0.00001	0.24990 ± 0.00001
3	1440	24	5.70439 ± 0.00001	0.26071 ± 0.00001
4	4320	72	5.60816 ± 0.00001	0.69959 ± 0.00001

Cuadro 38: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.221 ± 0.001	7.240 ± 0.001
2	480	8	7.167 ± 0.001	7.186 ± 0.001
3	1440	24	7.167 ± 0.001	7.190 ± 0.001
4	4320	72	7.167 ± 0.001	7.217 ± 0.001

Cuadro 39: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.07632 ± 0.00001	0.24271 ± 0.00001
2	480	8	5.77430 ± 0.00001	0.24857 ± 0.00001
3	1440	24	5.72049 ± 0.00001	0.25292 ± 0.00001
4	4320	72	5.59793 ± 0.00001	0.77085 ± 0.00001

Cuadro 40: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.158 ± 0.001	7.175 ± 0.001
2	480	8	7.464 ± 0.001	7.484 ± 0.001
3	1440	24	7.464 ± 0.001	7.488 ± 0.001
4	4320	72	7.464 ± 0.001	7.522 ± 0.001

Cuadro 41: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.13963 ± 0.00001	0.23426 ± 0.00001
2	480	8	5.77159 ± 0.00001	0.24868 ± 0.00001
3	1440	24	5.74946 ± 0.00001	0.25384 ± 0.00001
4	4320	72	5.56376 ± 0.00001	0.77412 ± 0.00001

Cuadro 42: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.213 ± 0.001	7.229 ± 0.001
2	480	8	7.411 ± 0.001	7.432 ± 0.001
3	1440	24	7.411 ± 0.001	7.434 ± 0.001
4	4320	72	7.411 ± 0.001	7.468 ± 0.001

Cuadro 43: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	6.06932 ± 0.00001	0.24339 ± 0.00001
2	30	0.5	5.95030 ± 0.00001	0.24400 ± 0.00001
3	60	1	5.85702 ± 0.00001	0.24679 ± 0.00001
4	120	2	5.81606 ± 0.00001	0.24796 ± 0.00001
5	240	4	5.78092 ± 0.00001	0.24830 ± 0.00001
6	480	8	5.76408 ± 0.00001	0.24985 ± 0.00001
7	720	12	5.76059 ± 0.00001	0.24998 ± 0.00001
8	1440	24	5.71247 ± 0.00001	0.25894 ± 0.00001
9	2880	48	5.67891 ± 0.00001	0.32855 ± 0.00001
10	4320	72	5.50391 ± 0.00001	0.77440 ± 0.00001

Cuadro 44: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 50 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.221 ± 0.001	7.240 ± 0.001
2	30	0.5	7.167 ± 0.001	7.187 ± 0.001
3	60	1	7.221 ± 0.001	7.242 ± 0.001
4	120	2	7.167 ± 0.001	7.187 ± 0.001
5	240	4	7.221 ± 0.001	7.242 ± 0.001
6	480	8	7.167 ± 0.001	7.188 ± 0.001
7	720	12	7.221 ± 0.001	7.243 ± 0.001
8	1440	24	7.167 ± 0.001	7.191 ± 0.001
9	2880	48	7.221 ± 0.001	7.249 ± 0.001
10	4320	72	7.167 ± 0.001	7.226 ± 0.001

Cuadro 45: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	5.66944 ± 0.00001	0.18102 ± 0.00001
2	480	8	5.66413 ± 0.00001	0.18332 ± 0.00001
3	1440	24	5.64246 ± 0.00001	0.19271 ± 0.00001
4	4320	72	5.59705 ± 0.00001	0.20249 ± 0.00001
5	10080	168	5.58330 ± 0.00001	0.26315 ± 0.00001
6	11520	192	5.53229 ± 0.00001	0.33148 ± 0.00001

Cuadro 46: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 1

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrifuga (g)	Peso del tubo de centrifuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.158 ± 0.001	7.177 ± 0.001
2	480	8	7.464 ± 0.001	7.483 ± 0.001
3	1440	24	7.158 ± 0.001	7.177 ± 0.001
4	4320	72	7.464 ± 0.001	7.484 ± 0.001
5	10080	168	7.158 ± 0.001	7.179 ± 0.001
6	11520	192	7.464 ± 0.001	7.489 ± 0.001

Cuadro 47: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	5.77151 ± 0.00001	0.18044 ± 0.00001
2	10080	168	5.58118 ± 0.00001	0.24989 ± 0.00001
3	11520	192	5.50934 ± 0.00001	0.28200 ± 0.00001

Cuadro 48: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 2

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.213 ± 0.001	7.231 ± 0.001
2	10080	168	7.213 ± 0.001	7.234 ± 0.001
3	11520	192	7.411 ± 0.001	7.435 ± 0.001

Cuadro 49: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	5	0.083	5.68087 ± 0.00001	0.17905 ± 0.00001
2	10080	168	5.57125 ± 0.00001	0.21839 ± 0.00001
3	11520	192	5.52195 ± 0.00001	0.25557 ± 0.00001

Cuadro 50: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 150 rpm con *buffer* – réplica 3

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	5	0.083	7.221 ± 0.001	7.239 ± 0.001
2	10080	168	7.221 ± 0.001	7.240 ± 0.001
3	11520	192	7.167 ± 0.001	7.190 ± 0.001

Cuadro 51: Porcentaje de lactosa y ácido láctico presentes en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – Madre

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Lactosa (% m/v)	Ácido láctico (% m/v)
1	4320	72	5.41673 ± 0.00001	0.7526 ± 0.00001
2	5760	96	4.92553 ± 0.00001	0.7957 ± 0.00001
3	14400	240	4.91534 ± 0.00001	0.9185 ± 0.00001

Cuadro 52: Pesos de la biomasa presente en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v agitada a 100 rpm sin *buffer* – Madre

No. de medición	Tiempo de medición (min)	Tiempo de medición (h)	Peso del tubo de centrífuga (g)	Peso del tubo de centrífuga + biomasa (g)
1	4320	72	7.158 ± 0.001	7.218 ± 0.001
2	5760	96	7.464 ± 0.001	7.525 ± 0.001
3	14400	240	7.158 ± 0.001	7.223 ± 0.001

B. Datos calculados

Cuadro 53: Masas calculadas de lactosuero en polvo para la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

No. Solución	Masa muestra 1 (g)	Masa muestra 2 (g)	Masa total lactosuero (g)	Concentración solución (% m/v)
1	77.832 ± 0.001	22.172 ± 0.001	100.004 ± 0.002	10.000 ± 0.003
2	50.567 ± 0.001	49.435 ± 0.001	100.002 ± 0.002	10.000 ± 0.003
3	57.094 ± 0.001	42.924 ± 0.001	100.018 ± 0.002	10.002 ± 0.004
4	60.836 ± 0.001	39.172 ± 0.001	100.008 ± 0.002	10.001 ± 0.004

Cuadro 54: Estadística de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (% m/v)	Incertidumbre media (± % m/v)	Desviación estándar (± % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
10.001	0.007	0.001	[10.000,10.002]	< 0.0001

Cuadro 55: Medias de pH de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

pH cuarteto de la solución 1	pH cuarteto de la solución 2	pH cuarteto de la solución 3	pH cuarteto de la solución 4
5.92 ± 0.02	5.94 ± 0.02	5.91 ± 0.02	5.84 ± 0.02

Cuadro 56: Estadística de las mediciones de pH de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media	Incertidumbre media	Desviación estándar	Intervalo de confianza	Coefficiente de variación
5.90	± 0.04	± 0.04	[5.83,5.97]	0.01

Cuadro 57: Medias del porcentaje de proteína de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Porcentaje proteína cuarteto de la solución 1 (% m/v)	Porcentaje proteína cuarteto de la solución 2 (% m/v)	Porcentaje proteína cuarteto de la solución 3 (% m/v)	Porcentaje proteína cuarteto de la solución 4 (% m/v)
0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.04

Cuadro 58: Estadística de las mediciones del porcentaje de proteína de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (% m/v)	Incertidumbre media (± % m/v)	Desviación estándar (± % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
0.13	0.08	0.00	[0.13,0.13]	0.00

Cuadro 59: Medias del porcentaje de grasa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Porcentaje grasa cuarteto de la solución 1 (% m/v)	Porcentaje grasa cuarteto de la solución 2 (% m/v)	Porcentaje grasa cuarteto de la solución 3 (% m/v)	Porcentaje grasa cuarteto de la solución 4 (% m/v)
0.00 ± 0.02	0.00 ± 0.02	0.00 ± 0.02	0.00 ± 0.02

Cuadro 60: Estadística de las mediciones del porcentaje de grasa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (% m/v)	Incertidumbre media (± % m/v)	Desviación estándar (± % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
0.00	0.04	0.00	[0.00,0.00]	0.00

Cuadro 61: Medias de la densidad de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Densidad cuarteto de la solución 1 (g/mL)	Densidad cuarteto de la solución 2 (g/mL)	Densidad cuarteto de la solución 3 (g/mL)	Densidad cuarteto de la solución 4 (g/mL)
1.0210 ± 0.0010	1.0210 ± 0.0010	1.0210 ± 0.0010	1.0210 ± 0.0010

Cuadro 62: Estadística de las mediciones de la densidad de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (g/mL)	Incertidumbre media (± g/mL)	Desviación estándar (± g/mL)	Intervalo de confianza (g/mL)	Coefficiente de variación
1.0210	0.0020	0.0000	[1.00210,1.0210]	0.0000

Cuadro 63: Medias del contenido de lactosa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Contenido lactosa cuarteto de la solución 1 (% m/v)	Contenido lactosa cuarteto de la solución 2 (% m/v)	Contenido lactosa cuarteto de la solución 3 (% m/v)	Contenido lactosa cuarteto de la solución 4 (% m/v)
8.37136 ± 0.00002	8.41117 ± 0.00002	8.56570 ± 0.00002	8.17996 ± 0.00002

Cuadro 64: Estadística de las mediciones del contenido de lactosa de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (% m/v)	Incertidumbre media (± % m/v)	Desviación estándar (± % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
8.38205	0.00004	0.15867	[8.12961,8.63449]	0.01893

Cuadro 65: Medias del contenido de ácido láctico de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Contenido ácido láctico cuarteto de la solución 1 (% m/v)	Contenido ácido láctico cuarteto de la solución 2 (% m/v)	Contenido ácido láctico cuarteto de la solución 3 (% m/v)	Contenido ácido láctico cuarteto de la solución 4 (% m/v)
0.12928 ± 0.00002	0.14009 ± 0.00002	0.23737 ± 0.00002	0.28974 ± 0.00002

Cuadro 66: Estadística de las mediciones del contenido de ácido láctico de los cuartetos de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

Media (% m/v)	Incertidumbre media (± % m/v)	Desviación estándar (± % m/v)	Intervalo de confianza (% m/v)	Coefficiente de variación
0.19912	0.00004	0.07754	[0.07575,0.32248]	0.38941

Cuadro 67: Masas de lactosuero en polvo húmedo y seco para la determinación del porcentaje de humedad en base seca y húmeda

No. Muestra	Masa muestra húmeda (g)	Masa muestra seca (g)	Porcentaje humedad base seca (% m/m)	Porcentaje humedad base húmeda (% m/m)
1	5.000 ± 0.001	4.893 ± 0.001	2.228 ± 0.029	2.179 ± 0.028
2	5.004 ± 0.001	4.903 ± 0.001	2.019 ± 0.029	1.979 ± 0.028
3	5.004 ± 0.001	4.906 ± 0.001	2.079 ± 0.029	2.037 ± 0.028
4	5.005 ± 0.001	4.902 ± 0.001	2.081 ± 0.029	2.038 ± 0.028

Cuadro 68: Estadística de la determinación del porcentaje de humedad en base seca y húmeda

Tipo porcentaje	Media (% m/m)	Incertidumbre media (± % m/m)	Desviación estándar (± % m/m)	Intervalo de confianza (% m/m)	Coefficiente de variación
Seco	2.102	0.058	0.089	[1.960,2.243]	0.042
Húmedo	2.058	0.057	0.085	[1.923,2.194]	0.041

Cuadro 69: Masas de lactosuero en polvo húmedo y seco para la determinación del porcentaje de cenizas

No. Muestra	Masa muestra (g)	Masa muestra calcinada (g)	Porcentaje cenizas (% m/m)
1	5.005 ± 0.001	1.612 ± 0.001	32.208 ± 0.030
2	5.001 ± 0.001	1.541 ± 0.001	30.814 ± 0.030
3	5.002 ± 0.001	1.468 ± 0.001	29.348 ± 0.029
4	5.002 ± 0.001	1.540 ± 0.001	30.788 ± 0.030

Cuadro 70: Estadística de la determinación del porcentaje de cenizas

Media (% m/m)	Incertidumbre media (± % m/m)	Desviación estándar (± % m/m)	Intervalo de confianza (% m/m)	Coefficiente de variación
30.789	0.059	1.168	[28.932,32.647]	0.038

Cuadro 71: Relación estequiométrica teórica en la reacción de la fermentación

Volumen base de cálculo (L)	Concentración de lactosa (g/L)	Masa de lactosa (g)	Concentración de ácido láctico (g/L)	Masa de ácido láctico inicial (g)	Masa de ácido láctico de reacción (g)	Masa de ácido láctico total (g)	Relación estequiométrica de reacción
0.200	83.820	16.764	1.991	0.398	17.647	18.045	1.076
0.150	83.820	12.573	1.991	0.299	13.235	13.534	1.076

Cuadro 72: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de *buffer* – corrida 1

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
0	0.000	4.600	83.820	1.991
1	0.083	2.400	64.651	1.440
2	0.167	2.400	65.118	1.433
3	0.250	3.200	64.207	1.411
4	0.500	2.600	64.135	1.390
5	1.000	4.200	65.315	1.425
6	2.000	1.400	65.119	1.352
7	4.000	2.000	65.585	1.423
8	8.000	1.600	65.999	1.433
9	12.000	2.200	65.388	1.427
10	24.000	1.800	65.757	1.394
11	48.000	2.400	68.461	1.453
12	72.000	3.800	72.482	1.519

Cuadro 73: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de *buffer* – corrida 2

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
0	0.000	4.600	83.820	1.991
1	0.083	2.200	64.946	1.345
2	0.167	3.000	65.004	1.233
3	0.250	3.600	64.290	1.380
4	0.500	4.200	64.425	1.365
5	1.000	2.600	65.035	1.340
6	2.000	2.200	64.905	1.334
7	4.000	2.000	65.007	1.242
8	8.000	1.600	64.635	1.235
9	12.000	1.800	64.440	1.201
10	24.000	1.600	64.687	0.954
11	48.000	2.200	64.241	0.645
12	72.000	3.000	65.136	1.250

Cuadro 74: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y sin uso de *buffer* – corrida 3

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
0	0.000	4.600	83.820	1.991
1	0.083	3.200	66.858	1.359
2	0.167	2.800	66.802	1.215
3	0.250	4.000	66.065	1.180
4	0.500	3.000	65.646	1.214
5	1.000	4.000	66.482	1.194
6	2.000	4.800	66.540	1.190
7	4.000	3.600	67.177	1.216
8	8.000	3.600	67.042	1.208
9	12.000	3.600	65.712	1.188
10	24.000	3.400	65.659	1.221
11	48.000	4.600	66.336	1.178
12	72.000	4.800	67.300	1.334

Cuadro 75: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 100 rpm de agitación y con uso de *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
Corrida 1				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.250	3.600	59.622	2.475
2	0.500	4.200	59.559	2.481
3	1.000	4.200	58.457	2.525
4	2.000	4.400	58.190	2.564
5	4.000	4.200	57.978	2.582
6	8.000	4.200	57.813	2.544
7	12.000	4.200	57.759	2.581
8	24.000	4.600	56.843	2.783
9	48.000	5.200	56.421	3.063
10	72.000	10.600	55.661	7.310
11	96.000	10.867	50.614	7.729
12	240.000	11.491	50.509	8.921
Corrida 2				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.200	60.905	2.421
2	8.000	4.000	57.841	2.448
3	24.000	5.400	56.676	2.525
4	72.000	9.800	56.180	7.070
Corrida 3				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.800	60.362	2.445
2	8.000	3.800	57.987	2.499
3	24.000	4.600	57.044	2.607
4	72.000	10.000	56.082	6.996

Cuadro 76: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 50 rpm de agitación y con uso de *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
Corrida 1				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.400	60.763	2.427
2	8.000	4.000	57.743	2.486
3	24.000	4.800	57.205	2.529
4	72.000	11.600	55.979	7.709
Corrida 2				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.200	61.396	2.343
2	8.000	4.200	57.716	2.487
3	24.000	4.600	57.495	2.538
4	72.000	11.400	55.638	7.741
Corrida 3				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.800	60.693	2.434
2	0.500	4.000	59.503	2.440
3	1.000	4.200	58.570	2.468
4	2.000	4.000	58.161	2.480
5	4.000	4.200	57.809	2.483
6	8.000	4.200	57.641	2.499
7	12.000	4.400	57.606	2.500
8	24.000	4.800	57.125	2.589
9	48.000	5.600	56.789	3.285
10	72.000	11.800	55.039	7.744
11	96.000	12.097	50.048	8.187
12	240.000	12.792	49.945	9.450

Cuadro 77: Concentración de *Lactobacillus leichmannii*, lactosa y ácido láctico, con el tiempo en la fermentación de una solución de lactosuero al 10 % m/v a una temperatura de 38 °C, 150 rpm de agitación y con uso de *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico

No. Muestra	Tiempo (h)	Concentración microorganismo (g/L)	Concentración lactosa (g/L)	Concentración ácido láctico (g/L)
Corrida 1				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.800	56.694	1.810
2	8.000	3.800	56.641	1.833
3	24.000	3.800	56.425	1.927
4	72.000	4.000	55.971	2.025
5	168.000	4.200	55.833	2.631
6	192.000	5.000	55.323	3.315
Corrida 2				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.600	57.715	1.804
2	168.000	4.200	55.812	2.499
3	192.000	4.800	55.093	2.820
Corrida 3				
0	0.000	3.400	83.820	1.991
1	0.083	3.600	56.809	1.791
2	168.000	3.800	55.713	2.184
3	192.000	4.600	55.220	2.556

Cuadro 78: Rendimiento de la experimentación basado en los resultados obtenidos de la fermentación de la solución de lactosuero 10 % m/v a 50 rpm y empleando *buffer*

Volumen base de cálculo (L)	Masa de lactosa teórica (g)	Masa de ácido láctico inicial teórica (g)	Masa de ácido láctico de reacción teórica (g)	Masa de ácido láctico total teórica (g)	Masa de ácido láctico experimental (g)	Rendimiento experimental de la fermentación
0.150	12.573	0.299	13.235	13.534	1.418	10.474%

C. Ecuaciones empleadas para los cálculos

Ecuación 11: propagación de error para sumas y restas

$$S_y = \sqrt{S_a^2 + S_b^2 + S_c^2}$$

Donde:

S_y es la incertidumbre del resultado (Sumas/restas)

$S_{a,b,c...}$ es la incertidumbre de cada medida a, b, c, etc.

(Skoog et al., 2015)

Ecuación 12: propagación de error para multiplicaciones y divisiones

$$\frac{S_y}{y} = \sqrt{\left(\frac{S_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{S_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{S_c}{c}\right)^2 \dots}$$

Donde:

S_y es la incertidumbre del resultado (multiplicación/división)

y es el valor del resultado del cálculo

a, b, c... es el valor de cada medida

$S_{a,b,c...}$ es la incertidumbre de cada medida a, b, c, etc.

(Skoog et al., 2015)

Ecuación 13: media muestral

$$\bar{X} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N X_i$$

Donde:

\bar{X} es la media muestral

N es el número de muestras

X_i es cada medida individual tomada.

(Anderson et al., 2016)

Ecuación 14: desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

Donde:

S es la desviación estándar muestral.

\bar{X} es la media muestral.

N es el número de muestras.

X_i es cada medida individual tomada.

(Anderson et al., 2016)

Ecuación 15: intervalo de confianza para la media

$$IC = \bar{X} \pm t_{\alpha/2} * \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Donde:

IC es el intervalo de confianza para la media.

S es la desviación estándar muestral.

\bar{X} es la media muestral.

N es el número de muestras.

$t_{\alpha/2}$ es el valor t de una tabla utilizando como grados de libertad N-1

(Anderson et al., 2016)

Ecuación 16: coeficiente de variación

$$CV = \frac{S}{\bar{X}}$$

Donde:

CV es el coeficiente de variación.

S es la desviación estándar muestral.

\bar{X} es la media muestral.

(Anderson et al., 2016)

Ecuación 17: porcentaje de humedad (base húmeda y seca)

$$\%humedad (base húmeda) = \frac{m_h - m_s}{\bar{m}_h} \cdot 100\%$$

$$\%humedad (base seca) = \frac{m_h - m_s}{m_s} \cdot 100\%$$

Donde:

m_h es la masa del sólido sin someter a proceso de secado.

m_s es la masa del sólido después de haberlo sometido a proceso de secado.

(Felder et al., 2018)

Ecuación 18: porcentaje de cenizas

$$\%cenizas = \frac{m_c}{m_n} \cdot 100\%$$

Donde:

\bar{m}_n es la masa del sólido sin someter a proceso de calcinación.

m_c es la masa del sólido después de haberlo calcinado.

(Felder et al., 2018)

Ecuación 19: concentración total de un *buffer*

$$C_T = [HA] + [A^-]$$

Donde:

C_T es la suma de la concentración del ácido y su par conjugado.

$[HA]$ es la concentración del ácido.

$[A^-]$ es la concentración de la base conjugada.

(Skoog et al., 2015)

Ecuación 20: concentración del ácido necesaria para la preparación de un *buffer*

$$[HA] = \frac{C_T}{10^{(pH-pka)} + 1}$$

Donde:

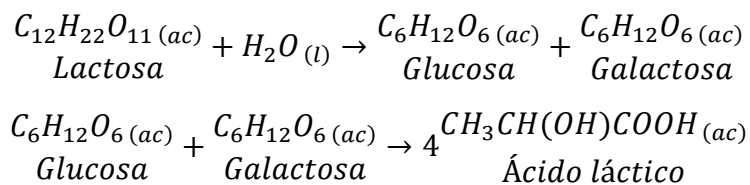
C_T es la suma de la concentración del ácido y su par conjugado.

$[HA]$ es la concentración del ácido.

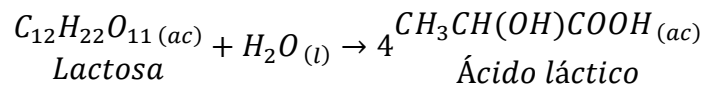
$[A^-]$ es la concentración de la base conjugada.

(Skoog et al., 2015)

Ecuación 21: ecuación química de la fermentación de la lactosa en ácido láctico



Por lo que la reacción resumida es:



Ecuación 22: relación estequiométrica teórica de reacción

$$R = \frac{\text{producto}}{\text{reactivo}}$$

Donde:

R es la relación estequiométrica teórica de la reacción de la fermentación de lactosa.

p es la cantidad másica de producto al final de la reacción.

r es la cantidad másica de reactivo al inicio de la reacción.

Ecuación 23: concentración de biomasa presente en la fermentación

$$C_m = \frac{m_m - m_t}{V}$$

Donde:

C_m es la concentración del microorganismo de la muestra fermentada.

m_m es la masa del tubo de la centrífuga con la masa del microorganismo seca.

m_t es la masa del tubo de la centrífuga seco.

V es el volumen de la alícuota tomada del erlenmeyer de la fermentación.

D. Cálculos de muestra

Cálculo 1: preparación de una solución de lactosuero al 10 % m/v

$$(159.102 \pm 0.001)g - (81.270 \pm 0.001)g = (77.832 \pm 0.001)g$$

$$(103.442 \pm 0.001)g - (81.270 \pm 0.001)g = (22.172 \pm 0.001)g$$

$$(77.832 \pm 0.001)g + (22.172 \pm 0.001)g = (100.004 \pm 0.002)g$$

$$\frac{(100.004 \pm 0.002)g}{(1,000.0 \pm 0.3)mL} \cdot 100\% = (10.000 \pm 0.003)\% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para la preparación de una solución de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 12. Se calculó de forma similar para las demás soluciones.

Cálculo 2: media de la preparación las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$\frac{[(10.000 \pm 0.003) + (10.000 \pm 0.003) + (10.002 \pm 0.004) + (10.001 \pm 0.004)]\%m/v}{4} = (10.001 \pm 0.007)\% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para determinar la media de las soluciones preparadas de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 53. Se calculó a partir de la ecuación 13.

Cálculo 3: media de las mediciones de pH de la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v

$$\frac{[(5.93 \pm 0.01) + (5.93 \pm 0.01) + (5.91 \pm 0.01) + (5.91 \pm 0.01)]}{4} = (5.92 \pm 0.02)$$

- Este cálculo se realizó para determinar la media de las mediciones de pH de la solución 1 de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 13. Se calculó a partir de la ecuación 13. Se calculó de forma similar para la media de las demás soluciones de lactosuero preparadas.
- Nota: se calculó de forma similar para la solución 1, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico.

Cálculo 4: media de las mediciones de pH de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$\frac{[(5.92 \pm 0.02) + (5.94 \pm 0.02) + (5.91 \pm 0.02) + (5.84 \pm 0.02)]}{4} = (5.90 \pm 0.04)$$

- Este cálculo se realizó para determinar la media de las mediciones de pH de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v. Partiendo de las medias individuales de cada solución de lactosuero. Los datos se obtuvieron del Cuadro 55. Se calculó a partir de la ecuación 13.
- Nota: se calculó de forma similar para las demás soluciones, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico. Partiendo de las medias individuales de cada solución. También se calculó de forma similar para el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo.

Cálculo 5: porcentaje de humedad del lactosuero en polvo

$$(34.176 \pm 0.001)g - (29.174 \pm 0.001)g = (5.002 \pm 0.001)g$$

$$(34.067 \pm 0.001)g - (29.174 \pm 0.001)g = (4.893 \pm 0.001)g$$

Base seca

$$\frac{[(5.002 \pm 0.001) - (4.893 \pm 0.001)]g}{(4.893 \pm 0.001)g} \cdot 100\% = (2.228 \pm 0.029)\% \frac{m}{m}$$

Base húmeda

$$\frac{[(5.002 \pm 0.001) - (4.893 \pm 0.001)]g}{(5.002 \pm 0.001)g} \cdot 100\% = (2.179 \pm 0.028)\% \frac{m}{m}$$

- Este cálculo se realizó para la determinación del porcentaje de humedad del lactosuero en polvo. Los datos se obtuvieron del Cuadro 25. Se calculó de forma similar para las demás muestras.

Cálculo 6: porcentaje de cenizas del lactosuero en polvo

$$(28.927 \pm 0.001)g - (23.922 \pm 0.001)g = (5.005 \pm 0.001)g$$

$$(25.534 \pm 0.001)g - (23.922 \pm 0.001)g = (1.612 \pm 0.001)g$$

$$\frac{[(1.612 \pm 0.001)]g}{(5.005 \pm 0.001)g} \cdot 100\% = (32.208 \pm 0.030)\% \frac{m}{m}$$

- Este cálculo se realizó para la determinación del porcentaje de cenizas del lactosuero en polvo. Los datos se obtuvieron del Cuadro 26. Se calculó de forma similar para las demás muestras.

Cálculo 7: relación teórica estequiométrica de la reacción de fermentación de lactosuero para producir ácido láctico

Concentración de lactosa en g/L:

$$8.38205\% \frac{m}{v} \div 100 = 0.08382 \frac{g}{mL} \cdot \frac{1000 mL}{1 L} = 83.382 \frac{g}{L} \text{ lactosa}$$

Concentración de ácido láctico inicial en g/L:

$$0.19912\% \frac{m}{v} \div 100 = 0.00199 \frac{g}{mL} \cdot \frac{1000 mL}{1 L} = 1.991 \frac{g}{L} \text{ ácido láctico}$$

Masa de ácido láctico de la fermentación:

$$83.382 \frac{g}{L} \text{ lactosa} \cdot 200 mL \cdot \frac{1 L}{1000 mL} = 16.764 g \text{ lactosa}$$

$$16.764 g \text{ lactosa} \cdot \frac{1 \text{ mol lactosa}}{342.3 g \text{ lactosa}} \cdot \frac{4 \text{ mol ácido láctico}}{1 \text{ mol lactosa}} \cdot \frac{90.08 g \text{ ácido láctico}}{1 \text{ mol ácido láctico}}$$

$$= 17.647 g \text{ ácido láctico}$$

Masa total de ácido láctico:

$$1.991 \frac{g}{L} \text{ ácido láctico} \cdot 200 mL \cdot \frac{1 L}{1000 mL} = 0.398 g \text{ ácido láctico}$$

$$(0.398 + 17.647) g \text{ ácido láctico} = 18.045 g \text{ ácido láctico}$$

Relación teórica estequiométrica:

$$R = \frac{18.045 g \text{ ácido láctico}}{16.764 g \text{ lactosa}} = 1.076$$

- Este cálculo se realizó para la determinación de la relación estequiométrica teórica de la fermentación del lactosuero para producir ácido láctico. Los datos se obtuvieron de los Cuadros 64 y 66. Se empleó un volumen de fermentación base de 200 mL. Se empleó como masa molar de la lactosa 342.3 g/mol, masa molar del ácido láctico 90.08 g/mol. Se empleó la ecuación 21 para el cálculo.

Cálculo 8: preparación de *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico

$$CT = 0.250 M$$

$$[HA] = \frac{0.25 M}{10^{(4.5-5.4)} + 1} = 0.222 M HCl$$

Cantidad de ácido clorhídrico a medir:

$$250 \text{ mL} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{0.222 \text{ mol}}{\text{L}} \cdot \frac{36.458 \text{ g HCl}}{1 \text{ mol HCl}} \cdot \frac{1 \text{ mL HCl puro}}{1.19 \text{ g HCl puro}} \cdot \frac{100 \text{ mL HCl impuro}}{37 \text{ mL HCl puro}} \\ = 4.60 \text{ mL HCl impuros}$$

$$[A^-] = 0.250 \text{ M} - 0.222 \text{ M} = 0.028 \text{ M}$$

Cantidad de ftalato ácido de potasio a medir:

$$250 \text{ mL} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{0.028 \text{ mol}}{\text{L}} \cdot \frac{204.22 \text{ g KHP}}{1 \text{ mol KHP}} \cdot \frac{100 \text{ g KHP impuro}}{99.5 \text{ g KHP puro}} \\ = 1.434 \text{ g KHP impuros}$$

- Este cálculo se realizó para la preparación de 500 mL de un *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Este se preparó a un pH de 4.5 y a una concentración total de 0.250 M. Los datos fisicoquímicos de los reactivos se encuentran en el Cuadro C.

Cálculo 9: determinación de biomasa presente en la fermentación mediante peso seco

$$\frac{7.175 \text{ g} - 7.158 \text{ g}}{5.000 \text{ mL}} = 0.00340 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \\ 0.00340 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \cdot \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 3.400 \frac{\text{g}}{\text{L}}$$

- Este cálculo se realizó para determinar la biomasa presente en una muestra de la fermentación. Los datos se obtuvieron del Cuadro 40. Se calculó de forma similar para las demás muestras.

Cálculo 10: rendimiento experimental de la fermentación de lactosuero

Concentración de lactosa en g/L:

$$8.38205\% \frac{m}{v} \div 100 = 0.08382 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \cdot \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 83.382 \frac{\text{g}}{\text{L}} \text{ lactosa}$$

Concentración de ácido láctico inicial en g/L:

$$0.19912\% \frac{m}{v} \div 100 = 0.00199 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \cdot \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 1.991 \frac{\text{g}}{\text{L}} \text{ ácido láctico}$$

Masa teórica de ácido láctico de la fermentación:

$$83.382 \frac{\text{g}}{\text{L}} \text{ lactosa} \cdot 150 \text{ mL} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 12.573 \text{ g lactosa} \\ 12.573 \text{ g lactosa} \cdot \frac{1 \text{ mol lactosa}}{342.3 \text{ g lactosa}} \cdot \frac{4 \text{ mol ácido láctico}}{1 \text{ mol lactosa}} \cdot \frac{90.08 \text{ g ácido láctico}}{1 \text{ mol ácido láctico}} \\ = 13.235 \text{ g ácido láctico}$$

Masa teórica total de ácido láctico:

$$1.991 \frac{g}{L} \text{ ácido láctico} \cdot 200 \text{ mL} \cdot \frac{1 L}{1000 \text{ mL}} = 0.299 \text{ g ácido láctico}$$

$$(0.299 + 13.235) \text{ g ácido láctico} = 13.534 \text{ g ácido láctico}$$

Masa experimental de ácido láctico:

$$9.450 \frac{g}{L} \text{ ácido láctico} \cdot 150 \text{ mL} \cdot \frac{1 L}{1000 \text{ mL}} = 1.418 \text{ g ácido láctico}$$

Rendimiento experimental de la fermentación:

$$\frac{1.418 \text{ g ácido láctico}}{13.534 \text{ g ácido láctico}} \cdot 100\% = 10.474\% \frac{m}{m}$$

- Este cálculo se realizó para determinar el rendimiento experimental de la fermentación de lactosuero para producir ácido láctico. A condiciones de 38 °C, 50 rpm de agitación y el empleo de *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico. Los datos se obtuvieron de los Cuadros 64, 66 y 76. Se empleó un volumen de fermentación base de 150 mL. Se empleó como masa molar de la lactosa 342.3 g/mol, masa molar del ácido láctico 90.08 g/mol. Se empleó la ecuación 21 para el cálculo.

E. Análisis de error

Cálculo 11: Incertidumbres involucradas en la preparación de una solución al 10 % m/v

$$\sqrt{(0.001 \text{ g})^2 + (0.001 \text{ g})^2} = \pm 0.00141 \dots \text{ g}$$

$$\sqrt{(0.00141 \dots \text{ g})^2 + (0.00141 \dots \text{ g})^2} = \pm 0.002 \text{ g}$$

$$10.000\% \frac{m}{v} \cdot \sqrt{\left(\frac{0.002 \text{ g}}{100.004 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0.3 \text{ mL}}{1,000.0 \text{ mL}}\right)^2} = \pm 0.003\% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para determinar las incertidumbres involucradas en la preparación de una solución de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 12. Se calculó de forma similar para las demás soluciones. Se calculó a partir de las ecuaciones 11 y 12.

Cálculo 12: Incertidumbre de la media de la preparación las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$\sqrt{\left(0.003\% \frac{m}{v}\right)^2 + \left(0.003\% \frac{m}{v}\right)^2 + \left(0.004\% \frac{m}{v}\right)^2 + \left(0.004\% \frac{m}{v}\right)^2} = \pm 0.007\% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para determinar la incertidumbre de la media de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 53. Se calculó a partir de las ecuaciones 11 y 12.

- Nota: se calculó de forma similar para las demás soluciones, el pH, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico. Partiendo de las medias individuales de cada solución. También se calculó de forma similar para el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo.

Cálculo 13: Desviación estándar de la preparación las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$\sqrt{\frac{\left(10.000 \% \frac{m}{v} - 10.001 \% \frac{m}{v}\right)^2 + \dots + \dots + \left(10.001 \% \frac{m}{v} - 10.001 \% \frac{m}{v}\right)^2}{4 - 1}}$$

$$= \pm 0.001 \% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para determinar la desviación estándar de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 53. Se calculó a partir de la ecuación 14.
- Nota: se calculó de forma similar para las demás soluciones, el pH, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico. Partiendo de las medias individuales de cada solución. También se calculó de forma similar para el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo.

Cálculo 14: Intervalo de confianza de la preparación las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$10.001 \% \frac{m}{v} \pm 3.182 \cdot \frac{0.001 \% \frac{m}{v}}{\sqrt{4}} = [10.000, 10.002,] \% \frac{m}{v}$$

- Este cálculo se realizó para determinar el intervalo de confianza de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 53. Se calculó a partir de la ecuación 15. Donde $t_{\alpha/2} = 3.182$ para 4 datos.
- Nota: se calculó de forma similar para las demás soluciones, el pH, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico. Partiendo de las medias individuales de cada solución. También se calculó de forma similar para el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo.

Cálculo 15: Coeficiente de variación de la preparación las soluciones de lactosuero al 10 % m/v

$$\frac{0.001 \% \frac{m}{v}}{10.001 \% \frac{m}{v}} = 0.00007$$

- Este cálculo se realizó para determinar el coeficiente de variación de la preparación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v. Los datos se obtuvieron del Cuadro 53. Se calculó a partir de la ecuación 16.

- Nota: se calculó de forma similar para las demás soluciones, el pH, la densidad, el porcentaje de proteínas y grasa; el contenido de lactosa y ácido láctico. Partiendo de las medias individuales de cada solución. También se calculó de forma similar para el porcentaje de humedad y cenizas del lactosuero en polvo.

Cálculo 16: Incertidumbres involucradas en el cálculo del porcentaje de humedad (base seca) del lactosuero en polvo

$$\begin{aligned} & \sqrt{(0.001 \text{ g})^2 + (0.001 \text{ g})^2} = \pm 0.00141 \dots \text{ g} \\ & \sqrt{(0.001 \text{ g})^2 + (0.001 \text{ g})^2} = \pm 0.00141 \dots \text{ g} \\ & 2.228\% \frac{\text{m}}{\text{m}} \cdot \sqrt{\left(\frac{0.00141 \dots \text{ g}}{5.002 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0.00141 \dots \text{ g}}{4.893 \text{ g}}\right)^2} = \pm 0.029\% \frac{\text{m}}{\text{m}} \end{aligned}$$

- Este cálculo se realizó para determinar las incertidumbres involucradas en el cálculo del porcentaje de humedad del lactosuero en polvo. Los datos se obtuvieron de los Cuadros 25 y 67. Se calculó a partir de las ecuaciones 11 y 12.

Cálculo 17: Incertidumbres involucradas en el cálculo del porcentaje de cenizas del lactosuero en polvo

$$\begin{aligned} & \sqrt{(0.001 \text{ g})^2 + (0.001 \text{ g})^2} = \pm 0.00141 \dots \text{ g} \\ & \sqrt{(0.001 \text{ g})^2 + (0.001 \text{ g})^2} = \pm 0.00141 \dots \text{ g} \\ & 32.208\% \frac{\text{m}}{\text{m}} \cdot \sqrt{\left(\frac{0.00141 \dots \text{ g}}{5.005 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0.00141 \dots \text{ g}}{1.612 \text{ g}}\right)^2} = \pm 0.030\% \frac{\text{m}}{\text{m}} \end{aligned}$$

- Este cálculo se realizó para determinar las incertidumbres involucradas en el cálculo del porcentaje de cenizas del lactosuero en polvo. Los datos se obtuvieron de los Cuadros 26 y 69. Se calculó a partir de las ecuaciones 11 y 12.

F. Cromatogramas

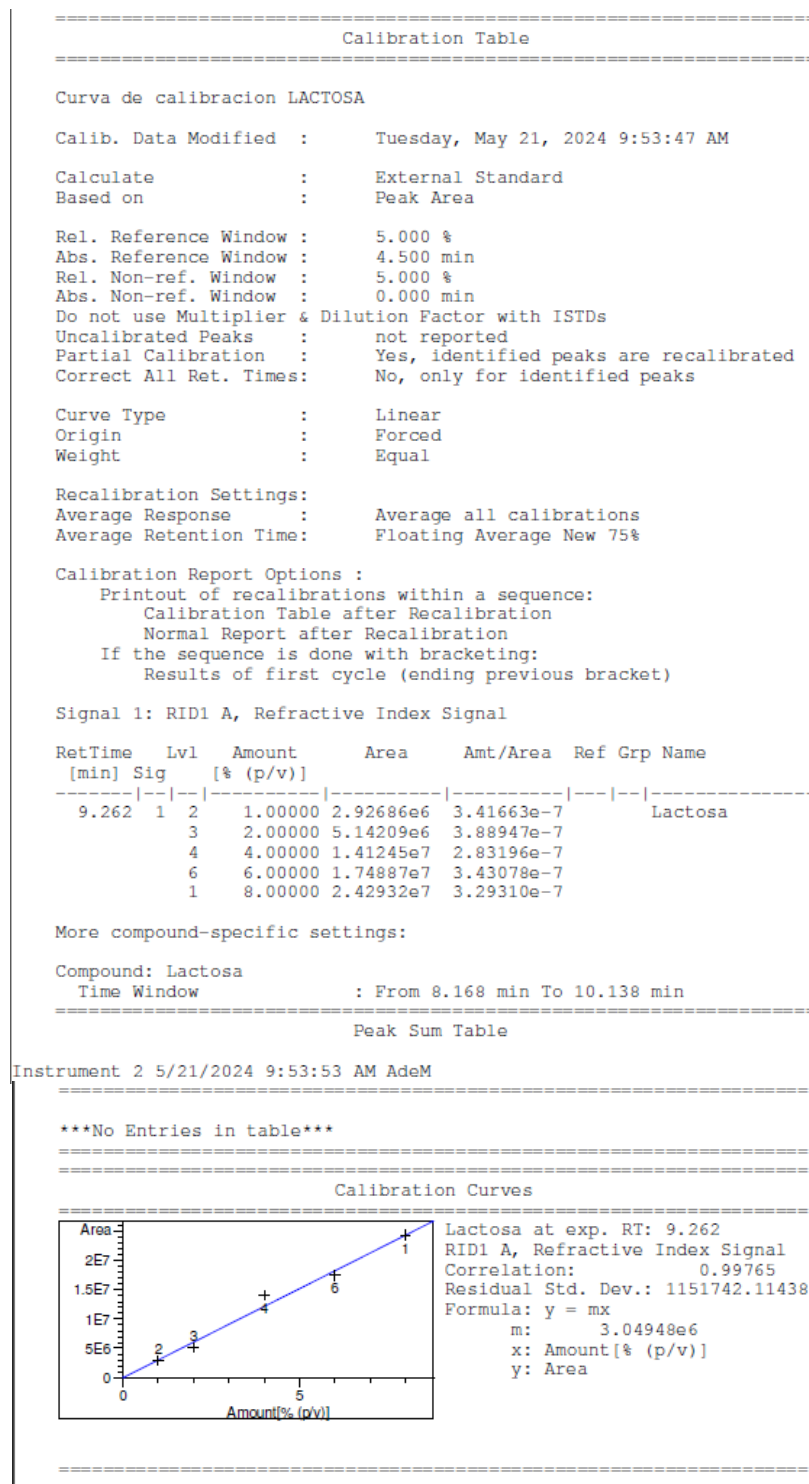


Figura 21. Curva de calibración en HPLC de la lactosa empleada para cuantificación de lactosa en las fermentaciones

```

=====
                          Calibration Table
=====
CURVA DE CALIBRACIÓN DE ACIDO LACTICO

Calib. Data Modified   :    Tuesday, May 21, 2024 10:08:18 AM

Calculate              :    External Standard
Based on              :    Peak Area

Rel. Reference Window :    5.000 %
Abs. Reference Window :    4.500 min
Rel. Non-ref. Window  :    5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :    0.000 min
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :    not reported
Partial Calibration   :    Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:    No, only for identified peaks

Curve Type            :    Linear
Origin                :    Forced
Weight                :    Equal

Recalibration Settings:
Average Response      :    Average all calibrations
Average Retention Time:    Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig  [% (p/v)]
-----
 11.824  1  4  1.00000e-1  2.79355e5  3.57967e-7  AC. LACTICO
          1  1.00000  2.80824e6  3.56095e-7
          2  3.00000  7.88300e6  3.80566e-7
          3  5.00000  1.25115e7  3.99632e-7

More compound-specific settings:

Compound: AC. LACTICO
Time Window      : From 9.526 min To 13.526 min
=====
                          Peak Sum Table
=====

```

```

Instrument 2 5/21/2024 10:08:26 AM AdeM
Method C:\HPCHEM\2\METHODS\ACLACHIH.M

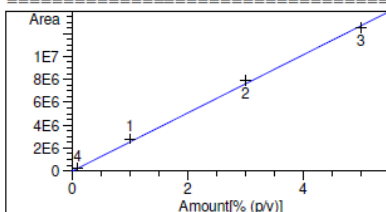
```

```

***No Entries in table***
=====

```

Calibration Curves



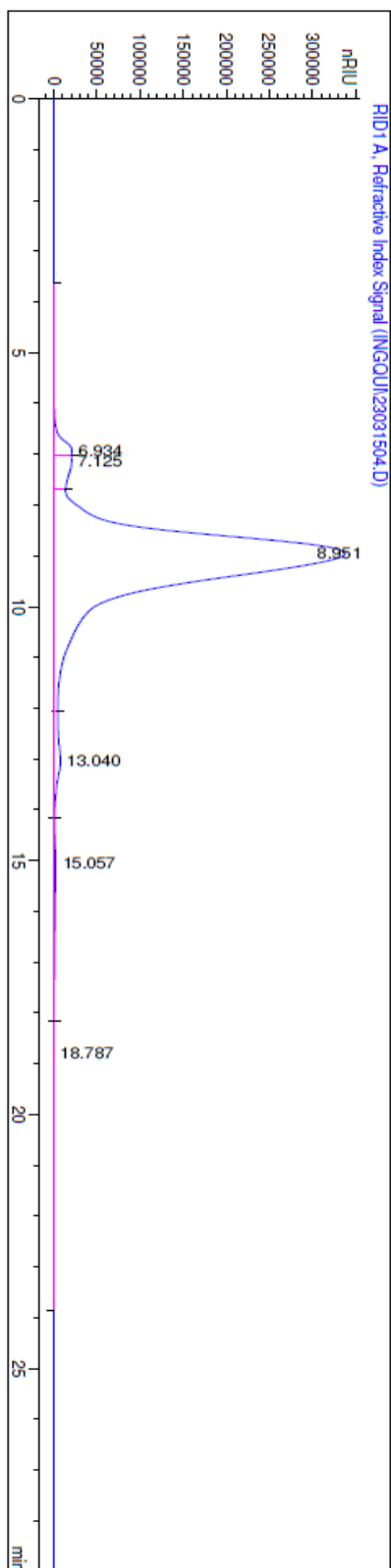
```

AC. LACTICO at exp. RT: 11.824
RID1 A, Refractive Index Signal
Correlation:          0.99961
Residual Std. Dev.:  242827.39061
Formula: y = mx
m:                   2.54335e6
x: Amount[% (p/v)]
y: Area

```

Figura 22. Curva de calibración en HPLC del ácido láctico empleada para cuantificación de lactosa en las fermentaciones

Metodo para determinacion de Azucares, alcoholes y acidos organicos, columnas Agilent Hi Plex H 300x7.8mm , 5um, fase movi
 Agua, temperatura de 40 columna, 40 en el detector y 25 en el termostato del automuestreador (tcc), 0.6 ml/minuto, 30 min de
 duracion



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : Thursday, March 16, 2023 10:22:39 AM
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

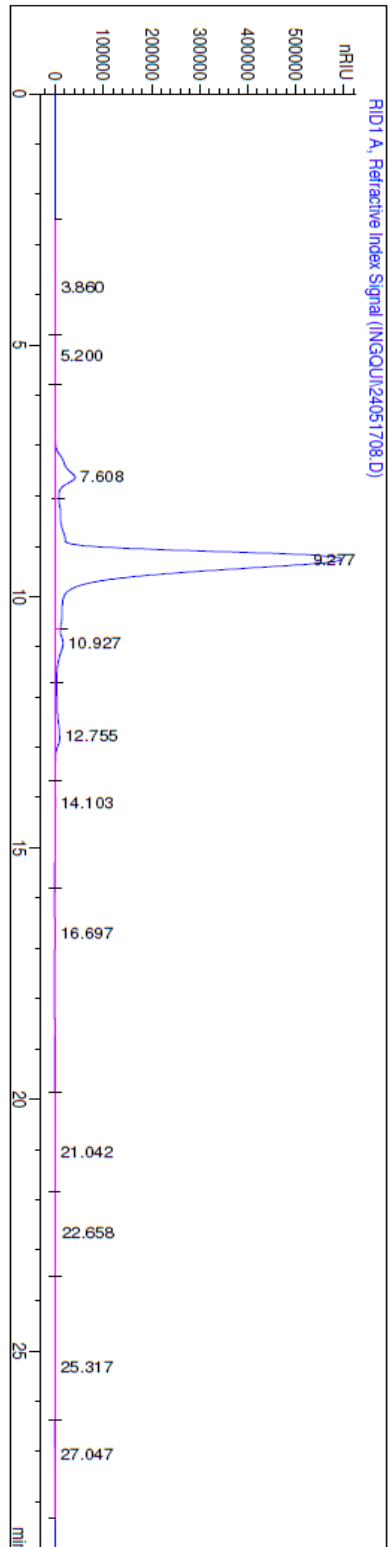
RetTime [min]	Type	Area [NRIV*s]	Amt/Area [% (p/v)]	Amount	Grp	Name
8.951	VV	2.28172e7	3.69532e-7	8.43170		Lactosa
Totals :						8.43170

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 23. Cromatograma de la medición de lactosa para la caracterización de la solución de lactosuero al 10 % m/v

Metodo para determinacion de Azucares, alcoholes y acidos organicos, columnas Agilent Hi Plex H 300x7.8mm , 5um, Fase movil Agua, temperatura de 40 columna, 40 en el detector y 25 en el termostato del automuestreador (tcc), 0.6 ml/minuto, 30 min de duracion



External Standard Report

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : Tuesday, May 21, 2024 9:53:47 AM
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area [% (p/v)]	Amount	Grp	Name
9.277	VV	1.72831e7	3.27925e-7	5.66756		Lactosa
Totals :				5.66756		

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 24. Cromatograma de la medición de lactosa para la fermentación empleando *buffer* y a una velocidad de agitación de 100 rpm para 72 horas

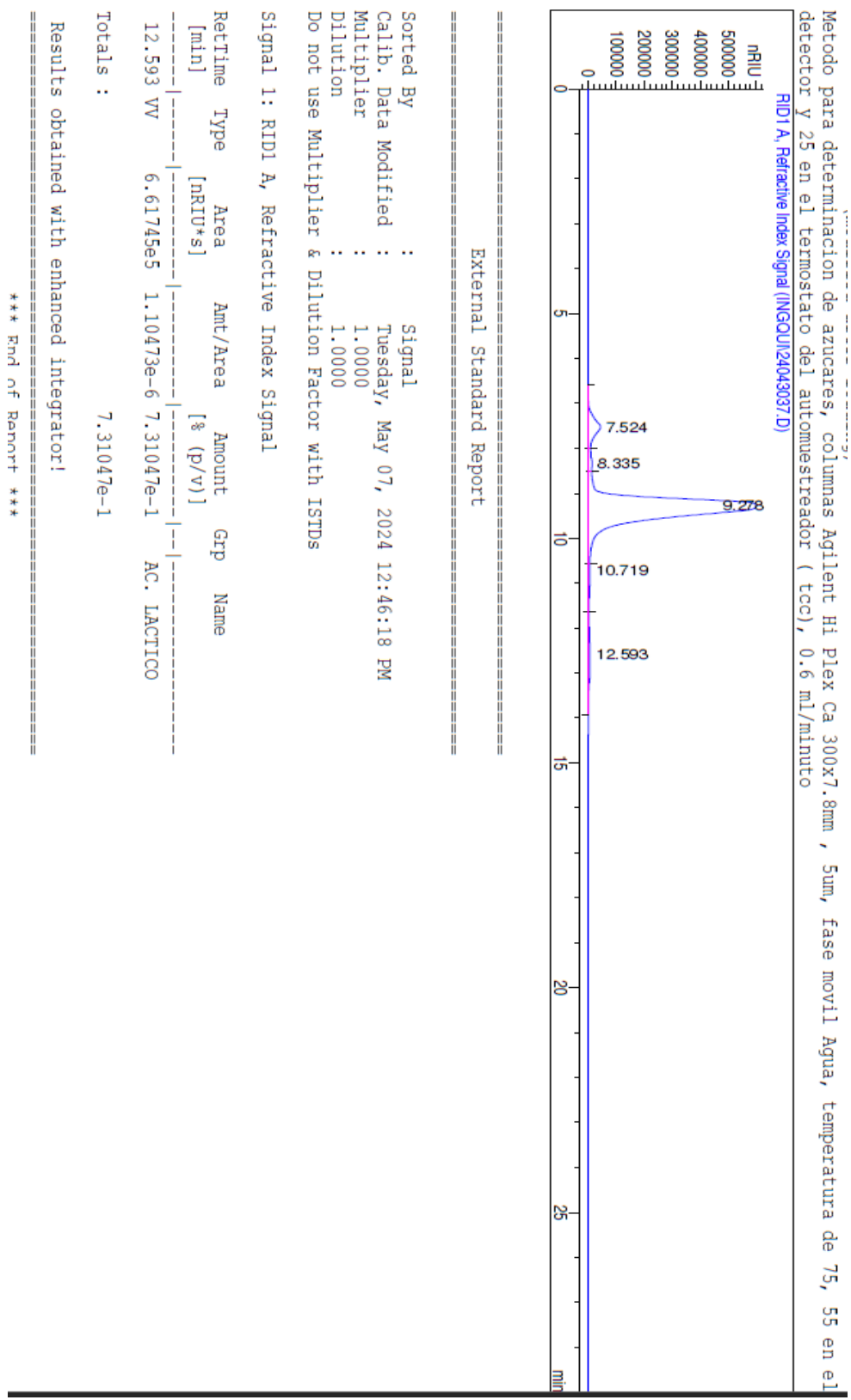


Figura 25. Cromatograma de la medición de ácido láctico para la fermentación empleando *buffer* y a una velocidad de agitación de 100 rpm para 72 horas

G. Ilustraciones

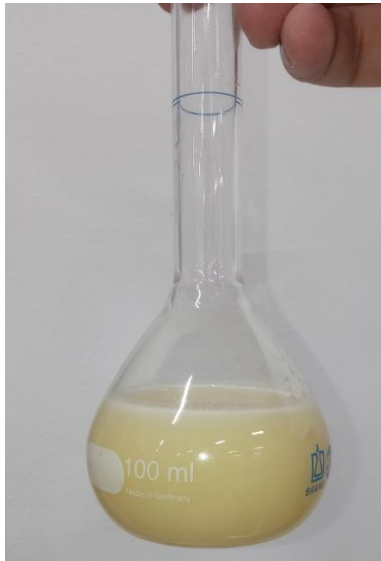


Figura 26. Solución de lactosuero al 10 % m/v

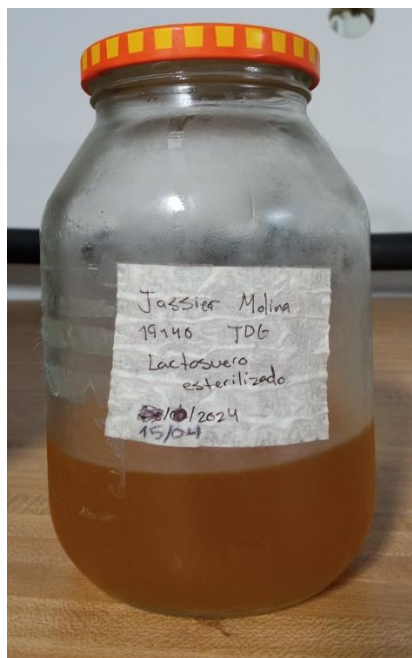


Figura 27. Solución de lactosuero al 10 % m/v desproteinizada y filtrada



Figura 28. Caja Petri con *Lactobacillus leichmannii* incubado

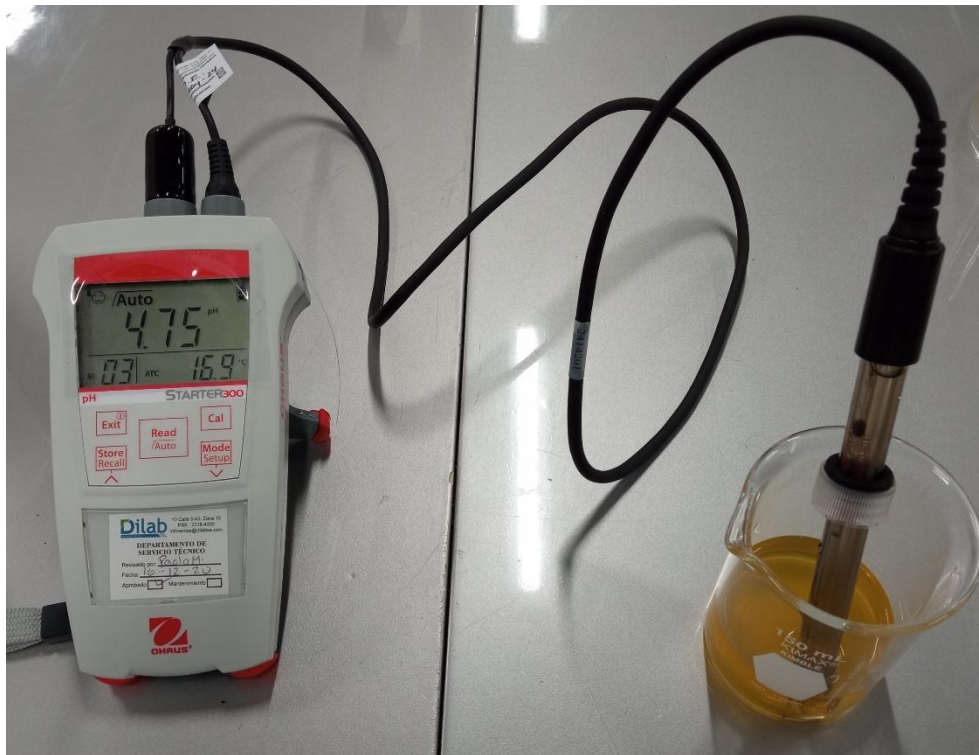


Figura 29. Medición del pH de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclado con el *buffer* de ftalato ácido de potasio y ácido clorhídrico

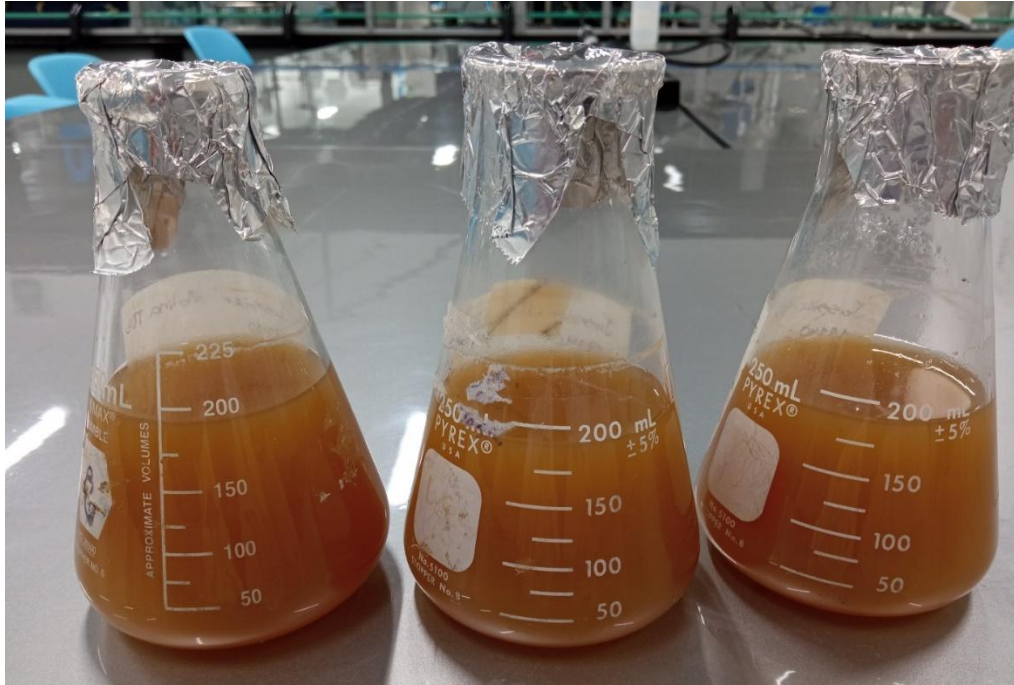


Figura 30. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el *buffer* y un tiempo de fermentación de 2 horas



Figura 31. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el *buffer* y un tiempo de fermentación de 24 horas



Figura 32. Fermentación de las soluciones de lactosuero al 10 % m/v mezcladas con el *buffer* y un tiempo de fermentación de 72 horas

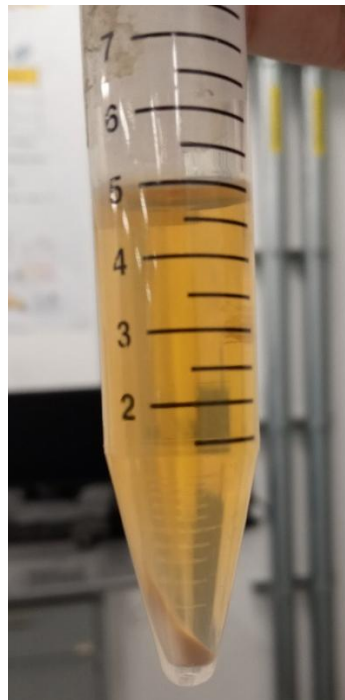


Figura 33. Biomasa generada en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclada con *buffer* y un tiempo de 24 horas



Figura 34. Biomasa generada en la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m/v mezclada con *buffer* y un tiempo de 72 horas

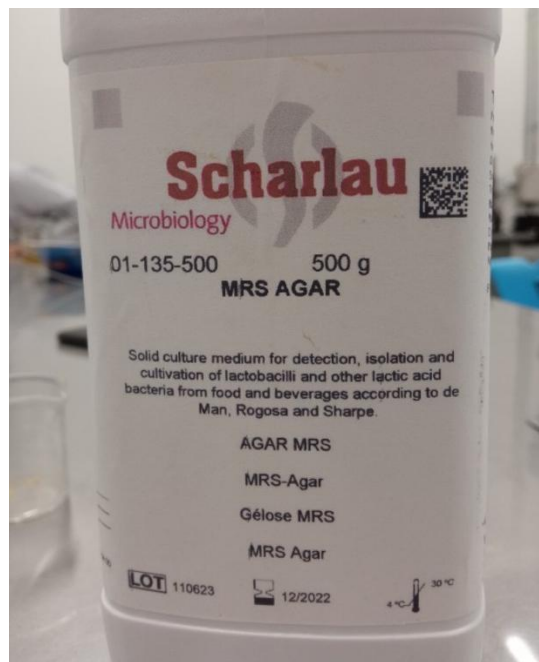


Figura 35. Agar MRS marca Scharlau empleado para el cultivo del lactobacilo

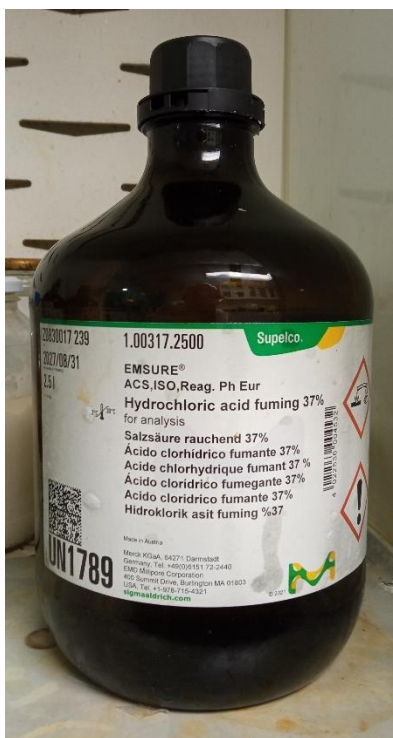


Figura 36. Ácido clorhídrico fumante al 37% marca Supelco empleado para la preparación del *buffer*

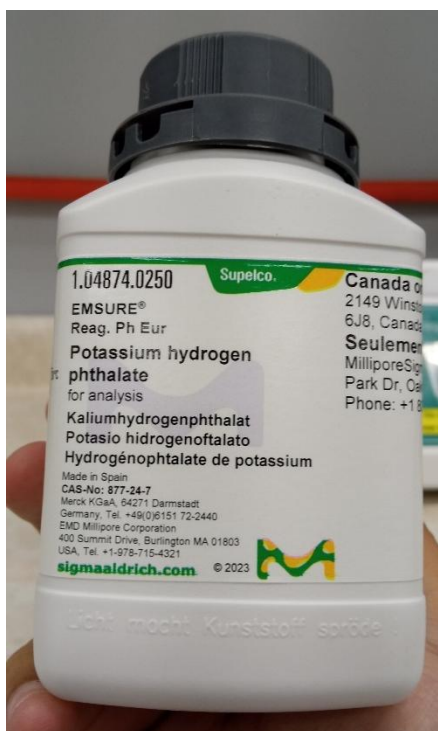


Figura 37. Ftalato ácido de potasio marca Supelco empleado para la preparación del *buffer*

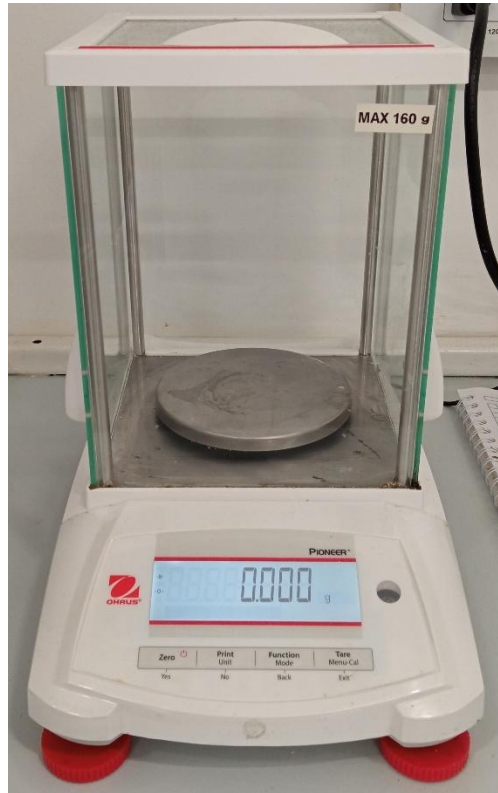


Figura 38. Balanza analítica marca OHAUS empleada en la experimentación



Figura 39. Ekomilk marca BULTEH empleado para la caracterización del lactosuero



Figura 40. Mufla marca Thermo Scientific empleada para la caracterización del lactosuero



Figura 41. Horno de secado por convección marca VWR empleado para la experimentación



Figura 42. Autoclave marca Tuttnauer empleada para la experimentación



Figura 43. Agitadora marca Lab. Companion empleada para la fermentación de la solución de lactosuero al 10 % m /v



Figura 44. Centrífuga marca Fisher Scientific empleada para la experimentación

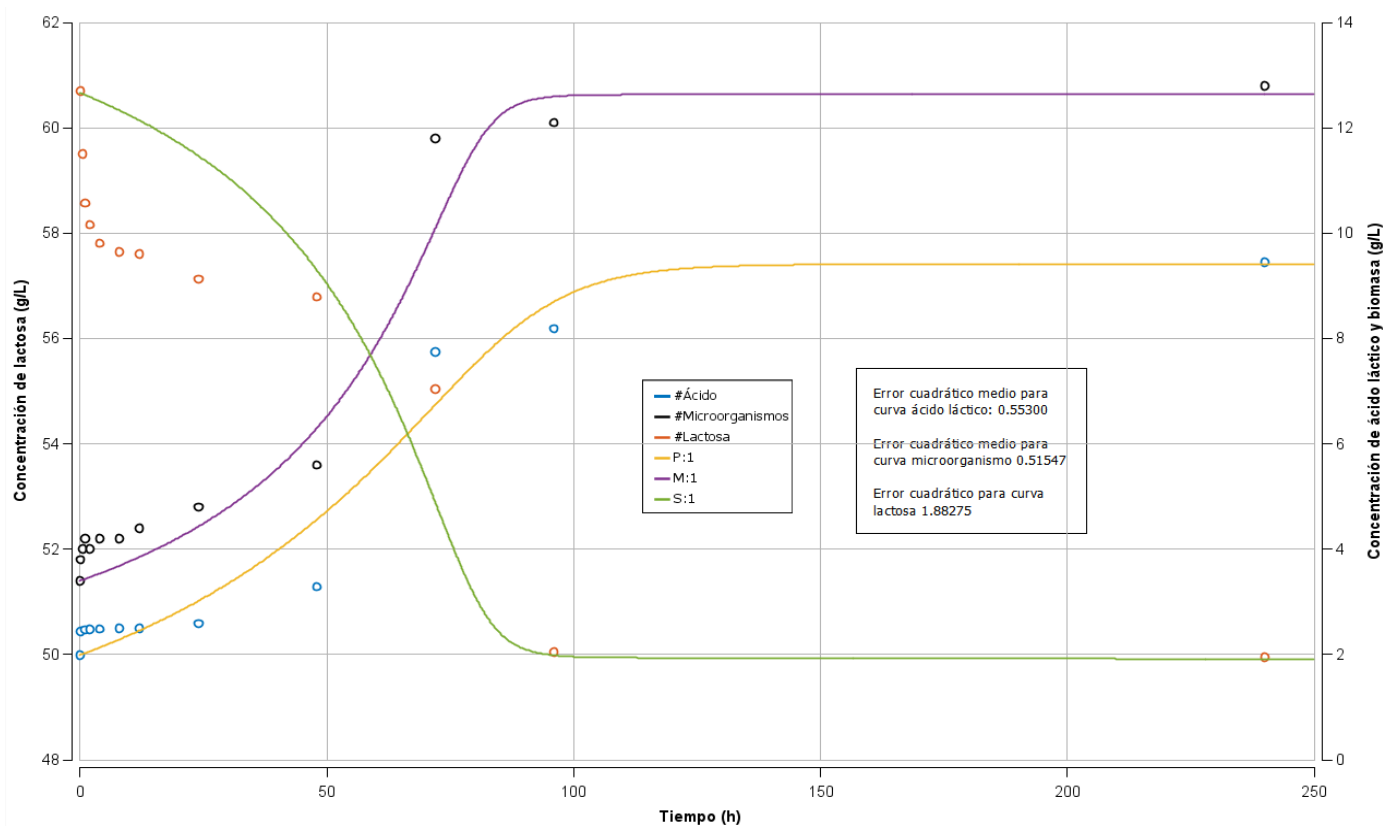


Figura 45. Ajuste del modelo cinético a los datos experimentales de crecimiento de *Lactobacillus leichmannii*, consumo de lactosa y producción de ácido láctico para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 50 rpm de agitación empleando

$$Q_P = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X$$

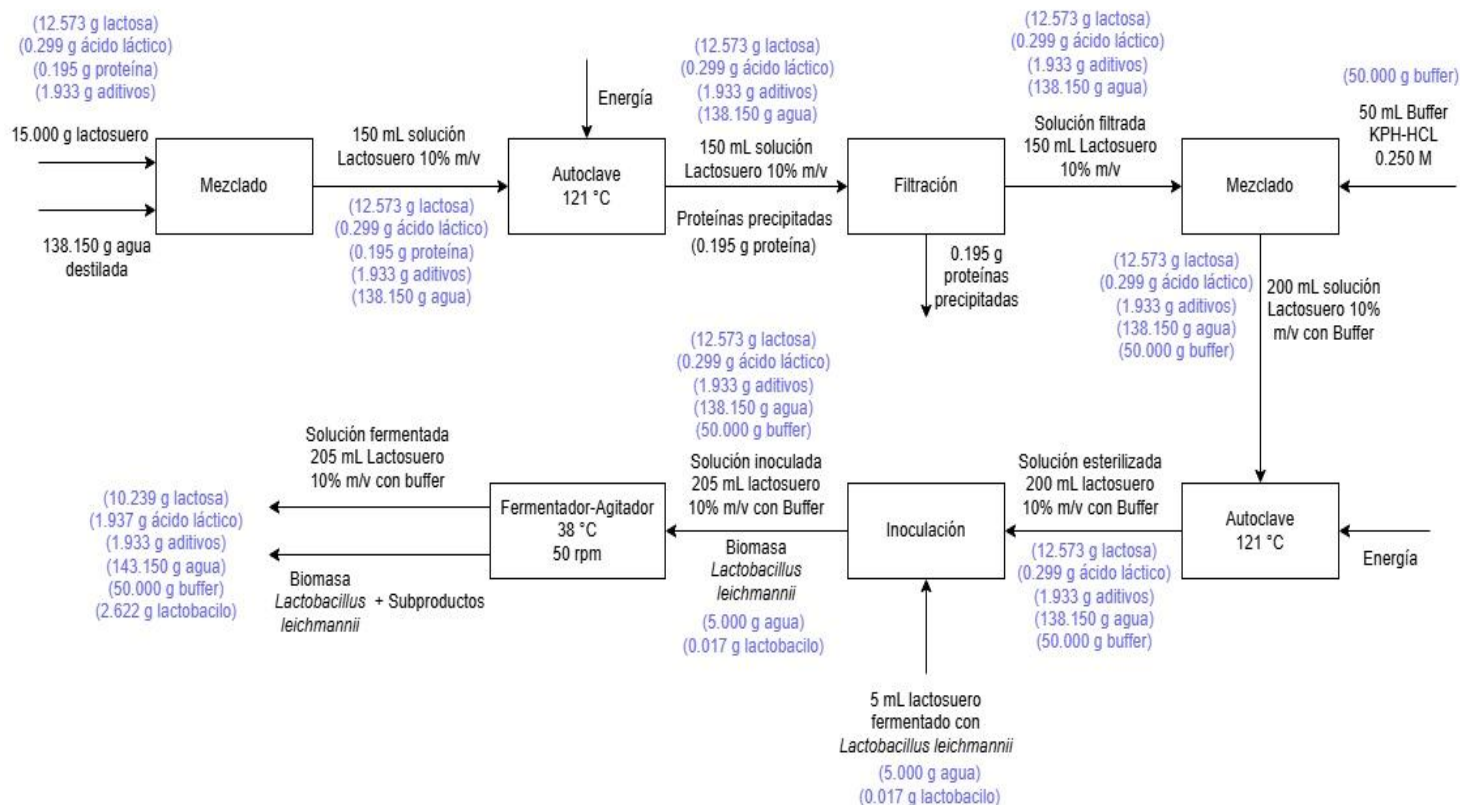


Figura 46. Diagrama de bloques y balance de masa para la fermentación del lactosuero al 10 % m/v con *buffer* a 50 rpm de agitación.

Nota: las cantidades en color azul y en paréntesis representan el desglose de los componentes del lactosuero, de las entradas y salidas del proceso. En color negro se muestran las entradas y salidas del proceso de forma general.

XIII. GLOSARIO

Ácido láctico: es un ácido orgánico producido durante la fermentación láctica, un proceso metabólico en el que los microorganismos convierten los carbohidratos en ácido láctico. Este ácido es responsable del sabor característico de algunos alimentos fermentados, como el yogur y el queso. También se utiliza como materia prima para síntesis, conservante y acidulante en alimentos. Útil para la industria cosmética y farmacéutica.

Bacterias acidolácticas (LAB): son un grupo de microorganismos que tienen la capacidad de producir ácido láctico como producto final de su metabolismo. Estas bacterias desempeñan un papel importante en la fermentación de alimentos y bebidas, como en la producción de yogur, queso, chucrut, entre otros.

Buffer: es una solución que mantiene un pH relativamente constante a pesar de la adición de ácidos o bases.

Cinética de una reacción: se refiere al estudio de la velocidad a la que ocurre una reacción química y los factores que la afectan. Algunos de los factores que influyen en la cinética de una reacción son la temperatura, la presión, la concentración de los reactivos y la presencia de catalizadores. Conocer la cinética de una reacción permite diseñar u optimizar procesos industriales.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): es una técnica analítica que permite separar, identificar y cuantificar los componentes de una mezcla compleja. Se basa en la diferente afinidad de los analitos por una fase estacionaria y una fase móvil líquida. HPLC se utiliza ampliamente en industrias químicas, farmacéuticas, alimentarias y de control de calidad.

Fermentación heteroláctica: es el proceso de fermentación de la lactosa por parte de bacterias acidolácticas, donde se producen múltiples productos finales como ácido láctico, etanol y dióxido de carbono.

Fermentación homoláctica: es el proceso de fermentación de la lactosa por parte de bacterias acidolácticas, donde el principal producto final es el ácido láctico.

Galactosa: es otro monosacárido que se libera durante la digestión de la lactosa. Aunque puede ser utilizada como fuente de energía, la mayor parte de la galactosa se convierte en glucosa en el hígado.

Glucosa: es un monosacárido que se considera la principal fuente de energía para la mayoría de las células del cuerpo. Puede obtenerse a través de la digestión de los carbohidratos, o también puede ser sintetizada por el hígado a partir de otros compuestos.

Inhibición por ácido láctico: se refiere al efecto inhibitorio que tiene el ácido láctico sobre el crecimiento y actividad de ciertos microorganismos. Esto se debe a la disminución del pH provocada por el ácido, lo cual afecta el metabolismo y viabilidad de algunas bacterias y hongos. Este fenómeno se aprovecha en la conservación de alimentos fermentados y en procesos biotecnológicos.

Lactosa: es el azúcar principal presente en la composición de la leche y productos lácteos. Es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa. Es un carbohidrato importante en la alimentación de los mamíferos jóvenes, ya que proporciona energía y nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo.

Lactosuero: es el líquido remanente después de la precipitación y separación de la caseína durante la elaboración de quesos u otros productos lácteos. Teniendo presente lactosa, vitaminas, minerales y proteínas remanentes como la beta-lactoglobulina y alfa-lactoalbúmina.

Reactor continuo: reactor que tiene una alimentación y descarga constante de reactivos y productos. Los reactivos se introducen de forma continua y el producto final se retira también de manera continua. Este tipo de reactor es más eficiente para producciones a gran escala, permitiendo un flujo de trabajo más automatizado.

Reactor por lotes: reactor químico o bioquímico que se carga con reactivos al inicio y se mantiene en condiciones controladas hasta que la reacción se complete. Luego, el producto final se descarga y el reactor se vuelve a cargar para un nuevo ciclo. Este tipo de reactor permite un mayor control del proceso y es adecuado para producciones a pequeña escala.

Ultrasonido: utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para obtener información sobre la composición y estructura de materiales. En biotecnología, se emplea para la ruptura celular, extracción de compuestos intracelulares y aceleración de reacciones químicas y bioquímicas. Esta técnica analítica versátil permite la caracterización de propiedades físicas y químicas de muestras complejas.