

INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE CALKINÍ

**“LECHE DE VACA (SUIZO AMERICANO) COMO POSIBLE FUENTE DE
ÁCIDO LÁCTICO”**

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**EGRESADO:
YAJAIRA VIANEY DZIB MIAN**

**DIRECTOR Y CO-DIRECTOR:
DR. MARIO ADRIAN DE ATOCHA DZUL CERVANTES
DR. YASSER ALEJANDRO CHIM CHI**

Calkiní, Campeche, México 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Subdirección de Planeación y Desarrollo

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante

Calkiní, Campeche 45727
P/03/25/703
INGENIERÍA BIOQUÍMICA

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

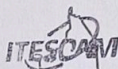
MODALIDAD: TESIS

C. YAJAIRA VIANEY DZIB MIAN 7472
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA BIOQUÍMICA.
PRESENTE

Con relación a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Licenciatura, capítulo VII, fracción I, vigente en este Instituto, y una vez emitido el fallo favorable por el director DR. MARIO ADRIAN DE ATOCHA DZUL CERVANTES, y el co-director DR. YASSER ALEJANDRO CHIM CHI, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: "**LECHE DE VACA (SUIZO AMERICANO) COMO POSIBLE FUENTE DE ÁCIDO LÁCTICO**".

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría, Fortaleza de Nuestra Cultura®



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE CALKINÍ
"DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR Y APOYO A
ESTUDIANTES"

Dr. Jorge Alfonso Hau Puc.
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante.

CLAVE: 04MSU0013P
CALKINÍ, CAMPECHE, MÉXICO.

C.c.p. Archivo



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24900 Tel. 996-8134870,
e-mail: se_dcalkini@tecnm.mx | Itescam.edu.mx



Dedicatoria.

A Dios, porque me ha brindado vida, conocimiento y me ha permitido alcanzar mis metas. En momentos de desafío y duda, su luz ha iluminado mi senda, brindándome la inspiración necesaria para seguir adelante.

A mis padres, quienes siempre han sido mi mayor apoyo, su amor incondicional y su sacrificio constante me han brindado las oportunidades necesarias para alcanzar mis metas. Gracias por su comprensión, aliento, por siempre estar presentes a lo largo de mi formación académica y por enseñarme la importancia del esfuerzo y perseverancia. Su confianza en mis capacidades me ha motivado a superar cada desafío.

A mis hermanos Mario y Karen por siempre escucharme y por ser una fuente constante de alegría y motivación en mi vida. A través de sus risas y curiosidad, me recuerdan la importancia de soñar en grande y de nunca rendirme ante los desafíos.

Agradecimientos.

Agradezco a Dios por darme el conocimiento necesario, por guiarme por el camino correcto y por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y cumplir con esta meta, porque sin el nada puede ser posible.

Agradezco a mis padres el Sr. Mario Gilberto Dzib May y la Sra. Jaqueline del Socorro Mian Pech, por su apoyo incondicional y su constante motivación. Su confianza en mí ha sido una fuente de inspiración a lo largo de mi trayectoria académica.

Al Dr. Mario Adrian de Atocha Dzul Cervantes y al Dr. Yasser Alejandro Chim Chi, gracias por compartir su conocimiento y por guiarme en este proceso. Su dedicación y compromiso con la enseñanza han sido fundamentales para mi desarrollo profesional.

Agradezco al Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, por brindarme las instalaciones y equipos con los cuales pude ejercer mi trabajo de investigación. La experiencia adquirida aquí ha sido invaluable.

ÍNDICE

RESUMEN.	8
ABSTRACT.	10
CAPÍTULO 1	11
INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO 2	14
MARCO TEÓRICO	14
2.1 SÍNTESIS DE BIOPOLÍMEROS	14
2.1.1 SÍNTESIS DE BIOPOLÍMEROS A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES.	14
2.1.2 BIOPOLÍMEROS Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA	18
2.2 PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO MEDIANTE FERMENTACIÓN MICROBIANA	23
2.3 LECHE BRONCA COMO FUENTE DE SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN	25
2.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DEL ÁCIDO LÁCTICO	28
2.4.1 RENDIMIENTO	35
2.4.2 ACIDEZ TITULABLE	37
2.4.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER	38
CAPÍTULO 3	41
ANTECEDENTES	41
Objetivo General	44
Objetivos Específicos	44
JUSTIFICACIÓN	44
CAPÍTULO 4.	46
METODOLOGÍA	46
4.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	46
4.2 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO	50
4.3 FERMENTACIÓN Y RECOLECCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO	54
4.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS	56
4.4.1 Rendimiento de la síntesis	57
4.4.2 Monitoreo de pH	58
4.4.3 Acidez titulable	59
4.4.4 Espectroscopia (FTIR)	60
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	62

5.1 CONCLUSIÓN	62
5.2 RECOMENDACIONES.	63
BIBLIOGRAFÍA.	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ácido Láctico.....	15
Figura 2. Vaca suizo americano.....	18
Figura 3. Bacterias del ácido láctico (lactobacillus).....	26
Figura 4. Levaduras Saccharomyces.....	27
Figura 5. HPCL.....	29
Figura 6. Cromatografía de gases (GC).....	30
Figura 7. Espectroscopia Infrarroja (FTIR).....	31
Figura 8. Grupo hidroxilo (-OH).....	32
Figura 9. Enzima celulsa.....	46
Figura 10. Levadura Lactobacillus spp.....	47
Figura 11. Nutriente (calcio).....	47
Figura 12. Filtración de leche cruda o bronca.....	50
Figura 13. Pequeña cantidad de impureza.....	50
Figura 14. Concentración a temperatura ambiente.....	51
Figura 15. Estado de coagulación.....	52
Figura 16. Incorporación de la enzima a la muestra.....	52
Figura 17. Mezclar homogéneamente.....	52
Figura 18. Incubación por 24 horas.....	53
Figura 19. Filtración después de las 24 horas.....	54
Figura 20. Líquido obtenido en frasco de fermentación.....	55
Figura 21. Incorporación de levadura (lactobacillus spp.).....	55
Figura 22. Incorporación de nutrientes (calcio).....	55
Figura 23. Incubación por 48 horas.....	56
Figura 24. Fórmula para calcular el porcentaje de acidez.....	59
Figura 25. Espectro FTIR del ácido láctico obtenido.....	60

Índice Tablas.

Tabla 1. Monitoreo de Ph.....	59
--------------------------------------	----

RESUMEN.

El ácido poliláctico (PLA) se ha posicionado como un polímero de gran relevancia en diversas aplicaciones, especialmente en los ámbitos de la farmacología y la ingeniería de tejidos, gracias a sus propiedades biodegradables y biocompatibles. Este material es notable por su capacidad de ser producido a partir de fuentes renovables, como la lactosa que se encuentra en la leche, lo que lo convierte en una opción más sostenible en comparación con los polímeros sintéticos que se obtienen del petróleo.

El objetivo de este trabajo es enfocarse en la síntesis de ácido láctico utilizando leche bronca como materia prima, con la finalidad de conocer su viabilidad para polimerizarlo en poli (ácido láctico) y su potencial aplicación como material de recubrimiento de fármacos. Esperando que no solo contribuya al desarrollo de un material innovador y sostenible, sino que también ofrezca nuevas perspectivas en la formulación de sistemas de liberación controlada que aprovechen las propiedades únicas de los ingredientes lácteos para aplicaciones farmacéuticas, sino que también promueva el uso sostenible de recursos naturales.

Este enfoque integral permitirá comprender no sólo las características del ácido láctico, sino también su impacto en diversas disciplinas y su papel en el desarrollo de tecnologías más sostenibles y eficientes. La iniciativa surgió de la necesidad apremiante de encontrar nuevos materiales que puedan servir como recubrimientos para medicamentos, especialmente aquellos que minimicen los efectos adversos asociados con muchos tratamientos farmacológicos. Los efectos secundarios, como la toxicidad y las complicaciones digestivas, son preocupaciones significativas en la industria farmacéutica. En este contexto, el PLA se presenta como una opción prometedora, dado que es un material biodegradable y biocompatible.

Este proyecto busca contribuir a un enfoque más sostenible en el desarrollo de soluciones médicas, alineándose con las tendencias actuales hacia el uso de materiales que respeten el medio ambiente. A lo largo de este análisis, se abordarán aspectos como su comportamiento en soluciones acuosas, su capacidad para participar en reacciones químicas, y su papel como conservante y acidulante en la

industria alimentaria. También se examinarán sus aplicaciones en la medicina, donde su biocompatibilidad y biodegradabilidad lo convierten en un material valioso para dispositivos médicos y sistemas de liberación de fármacos. Además, se discutirá su importancia en la producción de bioplásticos, un área en crecimiento que busca alternativas sostenibles a los plásticos convencionales.

ABSTRACT.

Polylactic acid (PLA) has positioned itself as a highly relevant polymer in various applications, especially in the fields of pharmacology and tissue engineering, thanks to its biodegradable and biocompatible properties. This material is notable for its ability to be produced from renewable sources, such as lactose found in milk, making it a more sustainable option compared to synthetic polymers obtained from petroleum.

The objective of this work is to focus on the synthesis of lactic acid using raw milk as a raw material, in order to know its viability to polymerize it into poly (lactic acid) and its potential application as a drug coating material. Hoping that it will not only contribute to the development of an innovative and sustainable material, but also offer new perspectives in the formulation of controlled release systems that take advantage of the unique properties of dairy ingredients for pharmaceutical applications, but also promote the sustainable use of natural resources.

This comprehensive approach will allow us to understand not only the characteristics of lactic acid, but also its impact on various disciplines and its role in the development of more sustainable and efficient technologies. The initiative arose from the pressing need to find new materials that can serve as coatings for drugs, especially those that minimize the adverse effects associated with many pharmacological treatments. Side effects, such as toxicity and digestive complications, are significant concerns in the pharmaceutical industry. In this context, PLA is presented as a promising option, given that it is a biodegradable and biocompatible material.

This project seeks to contribute to a more sustainable approach in the development of medical solutions, aligning with current trends towards the use of environmentally friendly materials. Throughout this analysis, aspects such as its behavior in aqueous solutions, its ability to participate in chemical reactions, and its role as a preservative and acidulant in the food industry will be addressed. Its applications in medicine will also be examined, where its biocompatibility and biodegradability make it a valuable material for medical devices and drug delivery systems. In addition, its importance in the production of bioplastics will be discussed, a growing area that seeks sustainable alternatives to conventional plastics.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

El ácido poliláctico (PLA) es un polímero biodegradable y biocompatible que ha ganado popularidad en diversas aplicaciones industriales y biomédicas. Su capacidad para ser sintetizado a partir de recursos renovables, como el maíz y la caña de azúcar, ha impulsado su uso en la fabricación de productos sostenibles (García, M., López, J., y Pérez, A. 2020). Sin embargo, la utilización de leche bronca o cruda como materia prima para la síntesis de PLA representa una innovación significativa, ya que permite aprovechar un recurso agropecuario subutilizado, al tiempo que se contribuye a la economía circular (Kumar, A., Singh, R., & Sharma, S. 2019).

La leche bronca, también conocida como leche cruda o leche no pasteurizada, es un recurso abundante que contiene una alta concentración de lactosa y proteínas. Estos componentes son esenciales no solo para la nutrición, sino también para su transformación en productos de gran valor añadido, como el ácido láctico. A través de procesos de fermentación, la lactosa presente en la leche bronca puede ser convertida en ácido láctico por diversas cepas de bacterias lácticas. Este proceso de fermentación es crucial, ya que permite aprovechar un recurso natural para la producción de un compuesto que tiene múltiples aplicaciones industriales. La lactosa es un disacárido que, al ser fermentado, se descompone en ácido láctico. Este proceso es realizado principalmente por bacterias lácticas, que convierten la lactosa en energía, produciendo ácido láctico como subproducto. La eficiencia de este proceso depende de factores como la temperatura, el pH y el tiempo de fermentación, lo que permite optimizar la producción de ácido láctico a partir de la leche bronca. Además de la lactosa, la leche bronca contiene proteínas que pueden ser descompuestas en péptidos y aminoácidos durante la fermentación. Estos compuestos no solo contribuyen al perfil nutricional del ácido láctico, sino que también pueden influir en las propiedades funcionales del ácido láctico producido. El ácido láctico es un compuesto clave en la producción de ácido poliláctico (PLA), un biopolímero que ha ganado popularidad en diversas aplicaciones debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad. La polimerización del ácido láctico permite la formación de PLA, que se utiliza en la fabricación de envases, productos

médicos y materiales de recubrimiento para fármacos.(Kumar, A., Singh, R., & Sharma, S. 2019).

La utilización del ácido poliláctico (PLA) como material de recubrimiento para fármacos ha emergido como una estrategia innovadora en el campo de la farmacología y la ingeniería de materiales. Esta aplicación es especialmente prometedora debido a su capacidad para controlar la liberación de principios activos, lo que no solo optimiza la biodisponibilidad de los medicamentos, sino que también ayuda a minimizar los efectos secundarios asociados con su uso. El PLA permite la formulación de sistemas de liberación controlada que pueden regular la tasa y el tiempo de liberación de los fármacos. Esto se logra mediante el diseño de matrices poliméricas que se degradan de manera controlada en el organismo, liberando el principio activo de forma gradual. Este enfoque es crucial para tratamientos que requieren niveles constantes de fármaco en el sistema, como en la terapia del dolor crónico o en tratamientos oncológicos. Al controlar la liberación de los fármacos, se puede maximizar la biodisponibilidad, es decir, la cantidad de fármaco que efectivamente llega a la circulación sistémica y está disponible para ejercer su efecto terapéutico.

Esto es especialmente importante para fármacos que tienen una baja solubilidad o que son rápidamente metabolizados y eliminados por el organismo. La liberación controlada ayuda a evitar picos altos de concentración del fármaco en el plasma, que a menudo están asociados con efectos secundarios adversos. Al mantener niveles estables de fármaco, se puede mejorar la tolerancia del paciente y reducir la incidencia de reacciones adversas, lo que es fundamental en tratamientos prolongados. Un régimen de dosificación más conveniente, facilitado por la liberación controlada, puede aumentar la adherencia del paciente al tratamiento.

Esto es especialmente relevante en terapias crónicas, donde la falta de adherencia puede comprometer la eficacia del tratamiento. La utilización de componentes derivados de la leche bronca en sistemas de liberación controlada de fármacos puede ofrecer beneficios adicionales que potencian la eficacia del PLA como material de recubrimiento. Los componentes bioactivos presentes en la leche bronca, como las proteínas y los péptidos antimicrobianos, pueden ser incorporados en las matrices de

PLA. Estas propiedades antimicrobianas no solo pueden ayudar a prevenir la contaminación microbiana de los sistemas de liberación, sino que también pueden contribuir a la reducción de infecciones en el sitio de administración del fármaco. Esto es particularmente relevante en aplicaciones médicas donde la esterilidad es crucial. La incorporación de derivados lácteos puede mejorar la biocompatibilidad del PLA, haciendo que el sistema de liberación sea más amigable con el organismo. Esto es esencial para asegurar que no haya reacciones adversas al material del recubrimiento, lo que podría comprometer la eficacia del tratamiento. La mejor tolerancia biológica también puede facilitar la aceptación del tratamiento por parte de los pacientes.(Cheng, Y., Zhang, L. y Wang, Z. 2022).

Este proyecto tiene como objetivo sintetizar el ácido láctico a partir de leche bronca, y este pueda ser utilizado como fuente precursora de PLA, para una potencial aplicación para recubrimiento de fármacos. Se espera que los resultados de esta investigación no solo contribuyan al desarrollo de materiales sostenibles, sino que también ofrezcan nuevas perspectivas en la formulación de sistemas de liberación controlada que aprovechen las propiedades únicas de los ingredientes lácteos.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 SÍNTESIS DE BIOPOLÍMEROS

2.1.1 SÍNTESIS DE BIOPOLÍMEROS A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES.

Los biopolímeros son macromoléculas que se producen de manera natural por organismos vivos y tienen la ventaja de ser biodegradables y renovables. Se pueden clasificar en tres categorías principales: los polisacáridos, que incluyen sustancias como la celulosa, el almidón y la pectina, utilizados en diversas aplicaciones alimentarias y farmacéuticas; las proteínas, como la caseína y la gelatina, que poseen múltiples usos en la industria alimentaria; y los ácidos nucleicos, aunque su aplicación en la industria es menos común, son fundamentales en biotecnología. La importancia de los biopolímeros radica en que representan una alternativa sostenible a los polímeros sintéticos, contribuyendo a la reducción del impacto ambiental y a la valorización de los residuos agroindustriales. (Shah, A. A., & al. 2020)

Los residuos agroindustriales son subproductos generados durante la producción y procesamiento de alimentos. Entre estos residuos se encuentra el suero de leche, que es un subproducto de la fabricación de queso y es rico en lactosa y proteínas. También se incluyen las cáscaras de frutas y verduras, que pueden servir como fuentes de celulosa y pectina, así como los residuos de cultivos, que contienen lignocelulosa. La relevancia de utilizar estos residuos radica en que no solo se reduce el desperdicio, sino que también se contribuye a una economía circular, donde los subproductos se transforman en recursos valiosos. (Bhat, T. A., & al. 2019)

El ácido láctico es un compuesto orgánico que se genera a través de la fermentación de azúcares, siendo la lactosa en el caso de la leche su principal sustrato. Este proceso de fermentación es llevado a cabo por bacterias como *Lactobacillus*. Para maximizar la producción de ácido láctico, es crucial controlar factores como la temperatura, el pH y el tiempo de fermentación. El ácido láctico resultante es utilizado en la producción de

biopolímeros, como el poliláctico (PLA), que es biodegradable y se utiliza en envases y productos desechables. (Reddy, R. H. K. K. S. K. R., & al. 2021)

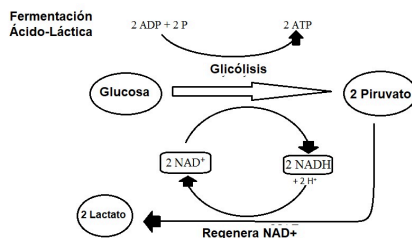


Figura 1. Acido Lactico

Los biopolímeros derivados del ácido láctico, y en particular el ácido poliláctico (PLA), han captado un creciente interés en los últimos años debido a sus propiedades biodegradables y su versatilidad en diversas aplicaciones industriales. Estos materiales representan una alternativa sostenible a los plásticos convencionales, que son derivados del petróleo y presentan serios problemas ambientales debido a su persistencia en el medio ambiente. A continuación, se exploran en detalle las, propiedades, procesos de producción y aplicaciones del PLA, así como su impacto en la sostenibilidad y el medio ambiente.

Propiedades Biodegradables

Una de las características más destacadas del PLA es su capacidad para descomponerse en condiciones ambientales. Este proceso de biodegradación ocurre a través de la acción de microorganismos en el suelo y en medios acuosos, donde el PLA se descompone en ácido láctico, un compuesto que es naturalmente absorbido y metabolizado por los organismos vivos. Esta propiedad es fundamental en la lucha contra la contaminación plástica, ya que el uso de PLA puede ayudar a reducir la acumulación de residuos en vertederos y océanos, contribuyendo así a un entorno más limpio y sostenible.

El ácido poliláctico (PLA) ha emergido como un material innovador en diversas industrias, gracias a su notable capacidad de degradación y su perfil ambientalmente responsable. Esta propiedad no solo representa una ventaja significativa para la sostenibilidad del medio ambiente, sino que también lo convierte en una opción altamente atractiva para aplicaciones específicas donde se requiere que el producto se

descomponga tras su uso. La capacidad de degradación del PLA no solo representa un avance significativo en la búsqueda de materiales más sostenibles, sino que también abre un abanico de oportunidades en diversas aplicaciones, incluyendo envases de alimentos, utensilios desechables y productos médicos.

Al permitir que los productos se descompongan de manera segura después de su uso, el PLA ofrece una solución eficaz a la crisis de residuos plásticos, al mismo tiempo que satisface la creciente demanda de los consumidores por opciones más responsables desde el punto de vista ambiental. La integración del PLA en la vida cotidiana puede ser un paso crucial hacia un futuro más sostenible, donde los productos no solo sean funcionales, sino también respetuosos con el planeta.

Propiedades Mecánicas Comparables

Además de su biodegradabilidad, el PLA posee propiedades mecánicas que son comparables a las de los plásticos convencionales. Esto incluye características como la resistencia a la tracción, la rigidez y la capacidad de moldearse en diversas formas y tamaños. Estas propiedades hacen que el PLA sea adecuado para una amplia gama de aplicaciones, desde envases flexibles y rígidos hasta componentes estructurales en la industria automotriz y de construcción.

El PLA se puede procesar utilizando técnicas comunes de fabricación de plásticos, como la extrusión, el moldeo por inyección y la impresión 3D. Esta versatilidad en el procesamiento permite que los fabricantes integren el PLA en sus líneas de producción existentes sin necesidad de realizar cambios significativos en sus equipos, lo que facilita su adopción en la industria.

Materias Primas Renovables

La producción de PLA a partir de materias primas renovables, como el almidón de maíz o la leche de vaca, refuerza su perfil de sostenibilidad. En lugar de depender de recursos fósiles no renovables, el PLA se elabora a partir de fuentes que se pueden regenerar anualmente. Este enfoque no solo reduce la huella de carbono asociada con la producción de plásticos, sino que también apoya prácticas agrícolas sostenibles.



La utilización de materias primas renovables para la producción de PLA implica un ciclo de vida más sostenible, donde el impacto ambiental se minimiza a lo largo de todas las etapas, desde la obtención de la materia prima hasta la disposición final del producto. Además, el uso de residuos agrícolas, como el suero de leche, en la producción de PLA puede contribuir a la economía circular, donde los subproductos de una industria se convierten en materias primas para otra.

Aplicaciones Industriales

Las aplicaciones del PLA son vastas y variadas, abarcando sectores como la industria alimentaria, medicina, embalaje y textiles. En la industria alimentaria, el PLA se utiliza para fabricar envases que no solo son biodegradables, sino que también ofrecen buenas propiedades de barrera contra la humedad y el oxígeno, prolongando la vida útil de los productos alimenticios. En el ámbito médico, el PLA se emplea en suturas, implantes y dispositivos de liberación controlada de fármacos, donde su biocompatibilidad y biodegradabilidad son esenciales para la seguridad del paciente.

(Auras, R., & al. 2018)

La leche de vaca, y en particular la variedad suizo americano, se presenta como una materia prima excepcional para la producción de ácido láctico, gracias a su alto contenido de lactosa y su composición nutricional favorable. La fermentación de la lactosa por bacterias lácticas permite obtener ácido láctico de manera eficiente, mientras que el uso del suero de leche contribuye a la reducción de residuos en la industria láctea.

Esta sinergia no solo impulsa el desarrollo de productos sostenibles, sino que también abre nuevas oportunidades en diversas aplicaciones, desde la industria alimentaria hasta la farmacéutica y la producción de bioplásticos. Así, el aprovechamiento de la leche de vaca y sus subproductos se erige como un modelo ejemplar de sostenibilidad y eficiencia en la producción industrial moderna.(Kumar, V., & al. 2022)



Figura 2. Vaca suizo americano

2.1.2 BIOPOLÍMEROS Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Los biopolímeros son macromoléculas producidas por organismos vivos, que se caracterizan por ser biodegradables y renovables. Debido a sus propiedades únicas, los biopolímeros han encontrado aplicaciones significativas en la industria farmacéutica, donde se utilizan en formulaciones de medicamentos, sistemas de liberación controlada, y como componentes en dispositivos médicos. Este documento explora las características de los biopolímeros, sus tipos más relevantes, y sus aplicaciones en el sector farmacéutico, respaldado por referencias académicas.

Los biopolímeros presentan varias propiedades que los hacen adecuados para aplicaciones farmacéuticas:

- **Biocompatibilidad:** Son compatibles con tejidos biológicos, lo que minimiza la respuesta inmunitaria.
- **Biodegradabilidad:** Se descomponen en productos no tóxicos, lo que reduce el riesgo de acumulación en el organismo.
- **Funcionalidad:** Pueden ser modificados químicamente para mejorar sus propiedades, como la solubilidad y la tasa de liberación de fármacos.

Tipos de Biopolímeros

Los biopolímeros se pueden clasificar en tres categorías principales:

- **Polisacáridos**

Los polisacáridos son macromoléculas formadas por la unión de múltiples monosacáridos a través de enlaces glicosídicos. Estas estructuras complejas son esenciales en diversos procesos biológicos y tienen una amplia gama de aplicaciones industriales, especialmente en la industria farmacéutica. Entre los polisacáridos más destacados se encuentran la celulosa, el almidón y el ácido hialurónico.

Ácido Hialurónico: Utilizado en formulaciones para la regeneración celular y en productos para el cuidado de la piel (Gómez et al., 2021).

- **Proteínas**

Las proteínas son macromoléculas biológicas fundamentales que desempeñan roles cruciales en casi todos los procesos biológicos. Están compuestas por cadenas de aminoácidos, que se pliegan en estructuras tridimensionales específicas que determinan su función. En el ámbito farmacéutico, las proteínas, como la caseína y la gelatina, se utilizan ampliamente en la formulación de cápsulas y recubrimientos de fármacos.

Gelatina: Comúnmente empleada para la fabricación de cápsulas blandas y como agente de liberación controlada (Tian et al., 2020).

- **Ácidos Nucleicos**

Los ácidos nucleicos, que incluyen el ADN (ácido desoxirribonucleico) y el ARN (ácido ribonucleico), son macromoléculas esenciales que almacenan y transmiten información genética en todos los seres vivos. En los últimos años, han emergido como herramientas prometedoras en la medicina moderna, especialmente en la entrega de fármacos y en el desarrollo de terapias génicas. Estructura y Función de los Ácidos Nucleicos.

ADN (Ácido Desoxirribonucleico)

Estructura: El ADN tiene una estructura de doble hélice compuesta por nucleótidos, que consisten en un grupo fosfato, un azúcar desoxirribosa y una base nitrogenada

(adenina, timina, citosina o guanina). La secuencia de estas bases codifica la información genética.

Función: El ADN es responsable del almacenamiento y transmisión de la información genética, así como de la síntesis de proteínas a través del proceso de transcripción y traducción.

ARN (Ácido Ribonucleico)

Estructura: El ARN es generalmente una cadena sencilla de nucleótidos que contiene ribosa en lugar de desoxirribosa y utiliza uracilo en lugar de timina. Existen diferentes tipos de ARN, como el ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt) y ARN ribosómico (ARNr).

Función: El ARN desempeña un papel crucial en la síntesis de proteínas y en la regulación de la expresión genética. El ARNm lleva la información del ADN a los ribosomas, donde se sintetizan las proteínas.

Delivery de ARN: Se están utilizando nanopartículas de ácido nucleico para la entrega de terapias basadas en ARN mensajero (mRNA) (Huang et al., 2021).

Aplicaciones en la Industria Farmacéutica

Sistemas de Liberación Controlada: Los biopolímeros son ideales para desarrollar sistemas de liberación controlada de fármacos, lo que permite una dosificación prolongada y una reducción de efectos secundarios. Por ejemplo, los hidrogeles de polímeros naturales pueden liberar medicamentos de manera sostenida. **Hidrogeles:** Utilizados para la liberación controlada de fármacos en tratamientos crónicos (Davis et al., 2019).

Formulaciones de Medicamentos: Los biopolímeros se utilizan en diversas formulaciones de medicamentos, incluyendo tabletas, cápsulas y soluciones inyectables. La biocompatibilidad de estos materiales permite su uso en formulaciones que se administran directamente en el cuerpo. **Tabletas de liberación prolongada:** Formuladas con polímeros biodegradables para mejorar la eficacia terapéutica (Mao et al., 2020).

Dispositivos Médicos: Los biopolímeros son utilizados en la fabricación de dispositivos médicos, como suturas, vendajes y sistemas de liberación de fármacos. La Biocompatibilidad y Biodegradabilidad

La biocompatibilidad se refiere a la capacidad de un material para coexistir con los tejidos del cuerpo sin provocar una respuesta inmune negativa. Este aspecto es crítico en la fabricación de dispositivos médicos, ya que cualquier reacción adversa puede comprometer la eficacia del tratamiento y la salud del paciente. Los biopolímeros, al ser derivados de fuentes naturales, tienden a ser más compatibles con los tejidos humanos en comparación con los polímeros sintéticos tradicionales. Esto se debe a que los biopolímeros, como el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliglicólico (PGA), son reconocidos por el cuerpo como componentes naturales, lo que reduce el riesgo de inflamación y rechazo.

La biodegradabilidad es una propiedad crucial de los biopolímeros, que los distingue de muchos materiales sintéticos. Esta característica se refiere a la capacidad de un material para descomponerse de manera natural en el medio ambiente, gracias a la acción de microorganismos, enzimas y otros procesos biológicos. En el contexto de la medicina y la biotecnología, la biodegradabilidad de los biopolímeros implica que estos materiales se descomponen en el cuerpo humano a través de mecanismos naturales, como la hidrólisis y la acción enzimática.

Suturas Biodegradables

Uno de los ejemplos más destacados del uso de biopolímeros en dispositivos médicos son las suturas biodegradables. Estas suturas están fabricadas con polímeros como el ácido poliláctico, que se descomponen en el cuerpo sin necesidad de extracción. Este tipo de sutura se utiliza comúnmente en procedimientos quirúrgicos, donde el cierre de heridas es esencial para la recuperación del paciente. A través de su degradación controlada, las suturas biodegradables proporcionan el soporte necesario durante el proceso de cicatrización, y luego se descomponen en productos no tóxicos que son absorbidos por el organismo.

Las suturas biodegradables ofrecen varias ventajas sobre las suturas tradicionales. En primer lugar, eliminan la necesidad de un segundo procedimiento para retirar las

suturas, lo que reduce el riesgo de complicaciones y mejora la comodidad del paciente. Además, estas suturas pueden ser diseñadas para liberar fármacos antimicrobianos o antiinflamatorios, lo que puede ayudar a prevenir infecciones y acelerar el proceso de cicatrización. Esta capacidad de liberación controlada de fármacos convierte a las suturas biodegradables en una opción atractiva para procedimientos quirúrgicos en piel, tejidos blandos y cirugía ortopédica (Hernández et al., 2021).

A pesar de sus numerosas ventajas, la implementación de biopolímeros en la industria farmacéutica enfrenta una serie de desafíos significativos que pueden limitar su uso y eficacia. Uno de los principales problemas es la variabilidad en la calidad de los biopolímeros naturales. Esta variabilidad puede deberse a factores como la fuente de extracción, las condiciones ambientales en las que se producen, y los métodos de procesamiento utilizados. Por ejemplo, los biopolímeros derivados de fuentes naturales como algas, plantas o microorganismos pueden presentar diferencias en su estructura química y propiedades físicas, lo que puede afectar su rendimiento en aplicaciones farmacéuticas. Esta inconsistencia puede llevar a dificultades en la formulación y la dosificación de medicamentos, así como en la garantía de la eficacia y seguridad de los productos finales.

Otro desafío crítico es el escalado de producción de biopolímeros. La producción a nivel de laboratorio puede ser relativamente sencilla, pero trasladar estos procesos a una escala industrial plantea problemas técnicos y económicos. Los métodos de extracción y purificación de biopolímeros pueden ser costosos y laboriosos, y la optimización de estos procesos para producción a gran escala requiere una inversión significativa en investigación y desarrollo. Además, las instalaciones de producción deben cumplir con estrictas regulaciones de calidad y seguridad, lo que añade una capa adicional de complejidad al proceso.

Sin embargo, a pesar de estos desafíos, la comunidad científica y la industria están trabajando activamente para encontrar soluciones. La investigación continúa en la modificación química de biopolímeros está abriendo nuevas posibilidades para mejorar sus propiedades y funcionalidad. A través de técnicas de modificación química, es

posible ajustar la estructura de los biopolímeros para optimizar su rendimiento en aplicaciones específicas. Por ejemplo, la modificación de la cadena polimérica puede mejorar la solubilidad, la estabilidad y la capacidad de liberación controlada de fármacos, lo que resulta en formulaciones más efectivas y seguras.

Además, la ingeniería de biopolímeros está emergiendo como una estrategia prometedora para superar los obstáculos actuales. Esta disciplina combina principios de biotecnología, química y ciencia de materiales para diseñar biopolímeros a medida que cumplen con requisitos específicos de rendimiento. Mediante el uso de técnicas avanzadas, como la biología sintética y la nanotecnología, los investigadores pueden desarrollar nuevos biopolímeros que no solo son más eficientes, sino también más sostenibles y adaptables a las necesidades cambiantes de la industria farmacéutica.

Aunque la implementación de biopolímeros en la industria farmacéutica enfrenta desafíos significativos, la continua investigación y desarrollo en la modificación química y la ingeniería de biopolímeros ofrece un camino esperanzador hacia la superación de estos obstáculos. Con el tiempo, es probable que estas innovaciones no solo mejoren la calidad y la consistencia de los biopolímeros, sino que también faciliten su adopción generalizada en aplicaciones farmacéuticas, contribuyendo así a la creación de medicamentos más efectivos y sostenibles.

Los biopolímeros ofrecen un amplio espectro de aplicaciones en la industria farmacéutica, desde sistemas de liberación controlada hasta dispositivos médicos. Su biocompatibilidad, biodegradabilidad y funcionalidad los convierten en una opción ideal para el desarrollo de nuevos tratamientos y tecnologías en el campo de la salud. La investigación en este ámbito sigue avanzando, lo que sugiere un futuro prometedor para los biopolímeros en la farmacia.

2.2 PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO MEDIANTE FERMENTACIÓN MICROBIANA

La producción de ácido láctico (AL) a través de la fermentación microbiana es un proceso biotecnológico que ha cobrado gran relevancia en diversas industrias,

incluyendo la alimentaria, farmacéutica y de biopolímeros. El ácido láctico es un compuesto orgánico cuya fórmula química es $C_3H_6O_3$, y se presenta en dos isómeros: el ácido L-láctico y el ácido D-láctico. De estos, el ácido L-láctico es el más utilizado en aplicaciones industriales debido a sus propiedades biocompatibles y funcionales.

La fermentación para la producción de ácido láctico se lleva a cabo principalmente mediante bacterias lácticas, que son microorganismos capaces de convertir azúcares en ácido láctico en condiciones anaeróbicas. Entre los géneros más destacados se encuentran: *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*. Estas bacterias no solo son esenciales para la producción de ácido láctico, sino que también juegan un papel crucial en la fermentación de productos lácteos y otros alimentos.

El proceso de producción de ácido láctico comienza con la preparación del sustrato, que puede ser de origen vegetal o animal. Los azúcares simples, como la glucosa y la lactosa, son comúnmente utilizados. Además, se pueden aprovechar residuos agroindustriales, como el suero de leche, que son ricos en lactosa y proteínas.

Una vez preparado el sustrato, se inicia la fermentación en un fermentador, donde las bacterias lácticas convierten los azúcares en ácido láctico, liberando energía en el proceso. Las condiciones de fermentación son fundamentales para maximizar la producción de ácido láctico. Factores como la temperatura, el pH y el tiempo de fermentación deben ser cuidadosamente controlados. Generalmente, la fermentación se realiza a temperaturas entre 30 y 42 °C, y un pH óptimo de entre 5.0 y 6.5.

El ácido láctico tiene una amplia gama de aplicaciones. En la industria alimentaria, se utiliza como conservante y acidulante en productos lácteos, encurtidos y bebidas fermentadas. Además, se emplea en la producción de alimentos funcionales, que ofrecen beneficios adicionales para la salud. En la industria farmacéutica, el ácido láctico es un componente clave en la producción de biopolímeros, como el ácido poliláctico (PLA), que es biodegradable y se utiliza en envases y productos médicos. También se utiliza en la industria química como materia prima para la fabricación de productos como solventes y plastificantes.

A pesar de sus ventajas, la producción de ácido láctico enfrenta varios desafíos. La competencia con otros procesos de fermentación, la necesidad de optimizar las condiciones de producción y la variabilidad en la calidad del sustrato son algunos de los

obstáculos que deben superarse. Sin embargo, la investigación continua en este campo busca mejorar la eficiencia y rentabilidad de la producción de ácido láctico.

La producción de ácido láctico mediante fermentación microbiana es un proceso biotecnológico prometedor con aplicaciones en diversas industrias. A medida que la demanda de ácido láctico sigue creciendo, la optimización de las condiciones de fermentación y la selección de microorganismos adecuados serán esenciales para maximizar la producción y enfrentar los desafíos que se presenten. La investigación y el desarrollo en este ámbito seguirán siendo cruciales para aprovechar las oportunidades que ofrece el ácido láctico en el futuro.

2.3 LECHE BRONCA COMO FUENTE DE SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN

La leche bronca, también conocida como leche cruda o leche sin pasteurizar, es aquella que se obtiene directamente de los animales, como vacas, cabras o ovejas, sin haber pasado por un proceso de pasteurización. Este tipo de leche contiene una rica variedad de nutrientes y microorganismos que la convierten en un sustrato ideal para procesos de fermentación. A continuación, se exploran en profundidad las características de la leche bronca, su composición, los microorganismos presentes y las aplicaciones de la fermentación en productos lácteos.

Composición de la Leche Bronca

La leche bronca es un líquido biológico complejo que contiene una mezcla de:

Compuestos	Descripción
Agua	Constituye aproximadamente el 87% de la leche.
Lactosa	Un azúcar natural que sirve como fuente de energía para los microorganismos durante la fermentación.

Proteínas	Incluyendo caseína y proteínas del suero, que son esenciales para el desarrollo de productos lácteos fermentados.
Grasas	Que proporcionan sabor y textura a los productos resultantes.
Vitaminas y Minerales	Como calcio, fósforo, y vitaminas A y B, que son importantes para la salud humana.

La presencia de estos componentes hace que la leche bronca sea un sustrato muy nutritivo y atractivo para la fermentación.

Microorganismos en la Leche Bronca

La leche bronca contiene una diversidad de microorganismos, tanto beneficiosos como potencialmente patógenos. Entre los microorganismos más relevantes para la fermentación se encuentran:

- **Bacterias Lácticas:** Como Lactobacillus, Streptococcus y Lactococcus, que son responsables de la fermentación láctica. Estas bacterias convierten la lactosa en ácido láctico, lo que ayuda a acidificar la leche y a desarrollar sabores característicos en productos lácteos fermentados.

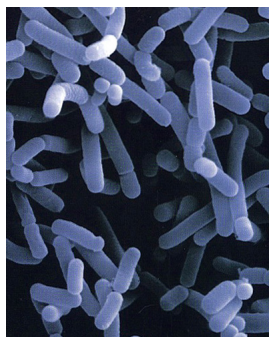


Figura 3. Bacterias del ácido láctico (lactobacillus)

- **Levaduras:** Como *Saccharomyces*, que pueden participar en la fermentación alcohólica, produciendo etanol y dióxido de carbono, especialmente en la elaboración de productos como el kefir.

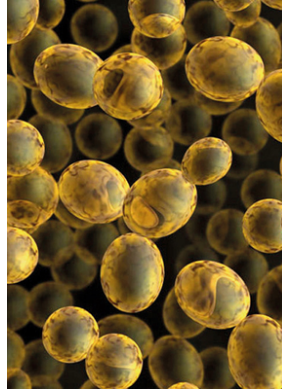


Figura 4. Levaduras *Saccharomyces*

- **Mohos:** Aunque menos comunes, algunos mohos pueden estar presentes y contribuir a la fermentación en ciertos productos, como en la elaboración de quesos específicos.

La diversidad microbiana de la leche bronca es fundamental, ya que la interacción entre diferentes microorganismos puede influir en el sabor, la textura y la calidad del producto final.

La fermentación de la leche bronca implica varios pasos:

- **Inoculación:** Se puede inocular la leche bronca con cultivos iniciadores específicos de bacterias lácticas para asegurar una fermentación controlada. Sin embargo, muchas veces se permite que las bacterias presentes de forma natural realicen la fermentación.
- **Fermentación:** Durante este proceso, las bacterias lácticas convierten la lactosa en ácido láctico. Este aumento en la acidez no solo preserva la leche, sino que también cambia su sabor y textura. Dependiendo de las condiciones de fermentación (temperatura, tiempo, y tipo de microorganismos), se pueden obtener diferentes productos, como yogur, queso, o kefir.
- **Maduración:** Algunos productos lácteos fermentados requieren un período de maduración, donde se desarrollan sabores más complejos y se producen

cambios en la textura. Esto es especialmente relevante en la elaboración de quesos.

- **Beneficios y Consideraciones**

La fermentación de la leche bronca presenta varios beneficios, como:

Mejora de la Digestibilidad: La fermentación puede hacer que los nutrientes sean más accesibles y fáciles de digerir.

- **Desarrollo de Sabores:** Los procesos de fermentación generan sabores únicos y complejos que son altamente valorados en la gastronomía.
- **Propiedades Probióticas:** Muchos productos lácteos fermentados son ricos en probióticos, que son beneficiosos para la salud intestinal.

Sin embargo, es importante considerar que la leche bronca también puede contener patógenos, como Salmonella o E. coli, que pueden representar un riesgo para la salud. Por lo tanto, es fundamental que los procesos de fermentación se realicen bajo condiciones controladas y con buenas prácticas de higiene para minimizar estos riesgos.

2.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DEL ÁCIDO LÁCTICO

El ácido láctico (AL) es un compuesto orgánico que se produce naturalmente en el cuerpo humano y en muchos microorganismos durante la fermentación. Su caracterización es fundamental en diversas industrias, incluyendo la alimentaria, farmacéutica y biotecnológica, debido a sus propiedades funcionales y su papel como conservante y acidulante. A continuación, se presentan los métodos más comunes para la caracterización del ácido láctico, abarcando técnicas fisicoquímicas, cromatográficas y espectroscópicas:

- **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)**

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) es una técnica analítica fundamental en la química analítica y la bioquímica, ampliamente utilizada para la separación, identificación y cuantificación de compuestos en mezclas complejas. En el

contexto del ácido láctico, esta técnica se ha consolidado como uno de los métodos más efectivos para su caracterización y análisis en diversas matrices, incluidas las alimentarias y biológicas.

Principio: La HPLC se basa en el principio de separación de compuestos a través de una columna que contiene una fase estacionaria, que puede ser un material sólido o un líquido inmovilizado, y una fase móvil, que es un solvente o una mezcla de solventes que fluye a través de la columna.



Figura 5. HPCL

Fase Estacionaria: La elección de la fase estacionaria es crucial para la separación efectiva de los compuestos. Existen diferentes tipos de fases estacionarias, como las de tipo C18, que son hidrofóbicas y se utilizan comúnmente para compuestos orgánicos. En el caso del ácido láctico, la fase estacionaria adecuada permite la retención y separación del ácido de otros componentes presentes en la muestra.

Fase Móvil: La fase móvil se selecciona según las propiedades de los compuestos a separar. Puede ser un solvente único o una mezcla de varios solventes, y su composición puede ajustarse para optimizar la separación. La polaridad de la fase móvil influye en la interacción con el ácido láctico y otros compuestos, afectando así su tiempo de retención.

Separación: A medida que la mezcla de muestra se introduce en la columna, los compuestos se distribuyen entre la fase estacionaria y la fase móvil. Aquellos que tienen una mayor afinidad por la fase estacionaria se retendrán más tiempo, mientras que los que son más solubles en la fase móvil se eluyen más rápidamente. Este proceso de partición permite la separación de los diferentes componentes de la mezcla.

Detección: Después de la separación, los compuestos eluidos son detectados mediante diferentes tipos de detectores. Los más comunes para el análisis de ácido láctico son:

Detector de Índice de Refracción (RID): Este detector mide cambios en el índice de refracción de la fase móvil a medida que los compuestos pasan a través de él. Es sensible a cambios en la concentración de los analitos, lo que lo hace útil para la cuantificación.

Detector UV/Vis: Este tipo de detector mide la absorbancia de los compuestos a longitudes de onda específicas. Dado que el ácido láctico tiene una absorbancia característica, este detector es eficaz para su cuantificación.

Ventajas: Alta sensibilidad y precisión, lo que permite la detección de concentraciones bajas de ácido láctico en matrices complejas, como alimentos y fluidos biológicos. (Chatzifragkou, A., et al. 2011)

- **Cromatografía de Gases (GC)** también se utiliza para la caracterización del ácido láctico, especialmente en estudios de volátiles y metabolitos.



Figura 6. Cromatografía de gases (GC)

Principio: En este método, el ácido láctico se volatiliza y se separa en una columna capilar. Los compuestos se detectan mediante un espectrómetro de masas (GC-MS) o un detector de ionización de llama (FID).

Ventajas: Permite la identificación de compuestos volátiles y proporciona información sobre la pureza del ácido láctico.

- **Espectroscopia Infrarroja (FTIR)** es una técnica analítica poderosa y versátil que se utiliza ampliamente en la identificación de compuestos químicos y la caracterización de materiales. En el contexto del ácido láctico, FTIR se aplica

para identificar grupos funcionales, determinar la pureza del compuesto y estudiar sus interacciones en diversas matrices.



Figura 7. Espectroscopia Infrarroja (FTIR)

Principio de la FTIR

La espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica poderosa y versátil que se utiliza ampliamente en la identificación de compuestos químicos y la caracterización de materiales. Esta técnica se basa en la interacción de la radiación infrarroja con la materia, permitiendo obtener información sobre la estructura molecular de los compuestos analizados. En el contexto del ácido láctico, FTIR se aplica para identificar grupos funcionales, determinar la pureza del compuesto y estudiar sus interacciones en diversas matrices. A continuación, se exploran en detalle las características, principios y aplicaciones de FTIR en el análisis del ácido láctico. El proceso se puede describir en varios pasos:

- **Irradiación de la Muestra:** La muestra se coloca en el camino de un haz de luz infrarroja. Este haz abarca una gama de longitudes de onda en el espectro infrarrojo, típicamente desde 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} .
- **Absorción de Radiación:** Cuando la luz infrarroja incide sobre la muestra, las moléculas absorben la energía de ciertas longitudes de onda. La absorción ocurre cuando la frecuencia de la radiación coincide con la frecuencia de vibración de un enlace químico en la molécula. Esto provoca cambios en la energía vibracional de los enlaces, lo que se traduce en un aumento de la amplitud de vibración.

- **Transformada de Fourier:** La técnica utiliza un interferómetro para medir la intensidad de la luz infrarroja que pasa a través de la muestra en función del tiempo. A partir de estos datos, se aplica una transformada de Fourier para convertir la información temporal en un espectro de frecuencia, que muestra la absorción en función del número de onda (cm^{-1}).
- **Interpretación del Espectro:** El resultado es un espectro FTIR que representa la absorción de radiación en diferentes longitudes de onda. Cada pico en el espectro corresponde a un tipo específico de vibración molecular, lo que permite identificar los grupos funcionales presentes en el ácido láctico.

Grupos Funcionales en el Ácido Láctico

El ácido láctico, químicamente conocido como ácido 2-hidroxipropanoico, presenta varios grupos funcionales que se pueden identificar mediante FTIR:

- **Grupo Hidroxilo (-OH):** Este grupo se manifiesta en el espectro FTIR como un amplio pico de absorción alrededor de $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$, asociado con la vibración de estiramiento del enlace O-H.

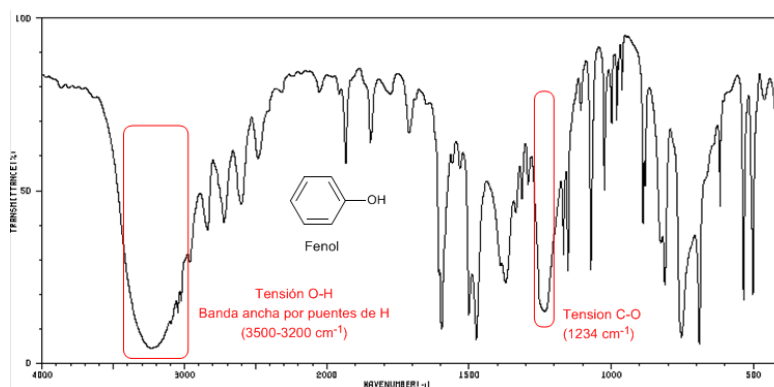


Figura 8. Grupo hidroxilo (-OH)

- **Grupo Carbonilo (C=O):** El ácido láctico también contiene un grupo carbonilo, que se muestra como un pico fuerte en la región de $1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$, correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O.
- **Grupo Metilo (C-H):** Las vibraciones de los enlaces C-H en los grupos metilo y metileno aparecen en la región de $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, donde se pueden observar picos característicos.

Ventajas: Rápido y no destructivo, ideal para el análisis cualitativo y cuantitativo.

- **Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)** es una técnica poderosa para la determinación estructural del ácido láctico.

Principio: Se basa en la absorción de radiación de microondas por núcleos atómicos en un campo magnético. Proporciona información sobre la disposición de los átomos en la molécula.

Ventajas: Ofrece información detallada sobre la estructura molecular y la dinámica del ácido láctico.

- **Métodos electroquímicos, como la voltametría**

Los métodos electroquímicos, en particular la voltametría, se han consolidado como herramientas efectivas para la detección y cuantificación del ácido láctico en diversas matrices, incluyendo muestras biológicas, alimentos y productos farmacéuticos. Estos métodos ofrecen ventajas significativas en términos de sensibilidad, especificidad y aplicabilidad en diferentes entornos.

El principio fundamental detrás de la voltametría radica en la medición de la corriente eléctrica generada por las reacciones electroquímicas que ocurren en un electrodo. En el caso del ácido láctico, se mide la corriente resultante de su oxidación o reducción en un electrodo específico. Este proceso puede describirse de la siguiente manera:

- **Oxidación del Ácido Láctico:** Cuando el ácido láctico se oxida en el electrodo, se generan electrones que producen una corriente eléctrica. La magnitud de esta corriente es proporcional a la concentración de ácido láctico presente en la muestra.
- **Reducción del Ácido Láctico:** Alternativamente, también se puede realizar una medición basada en la reducción del ácido láctico, donde se capturan electrones, generando igualmente una corriente que puede ser cuantificada.

Este enfoque electroquímico permite no solo la identificación del ácido láctico, sino también su cuantificación precisa, lo que lo convierte en un método altamente eficiente para su análisis.

Ventajas de los Métodos Electroquímicos

Los métodos electroquímicos, y en particular la voltametría, presentan varias ventajas que los hacen especialmente atractivos para la detección y cuantificación del ácido láctico:



- **Alta Sensibilidad:** La capacidad de detectar concentraciones muy bajas de ácido láctico es una de las principales fortalezas de la voltametría. Esto es crucial en aplicaciones donde se requieren mediciones precisas, como en el monitoreo de procesos metabólicos en el cuerpo humano o en la evaluación de la calidad de productos alimenticios.
- **Especificidad:** Los métodos electroquímicos pueden ser diseñados para ser altamente específicos, lo que significa que pueden distinguir el ácido láctico de otros compuestos presentes en la muestra. Esto se logra mediante la selección adecuada del electrodo y las condiciones experimentales.
- **Detección en Tiempo Real:** Una de las características más valiosas de la voltametría es su capacidad para proporcionar resultados en tiempo real. Esto es especialmente útil en aplicaciones de monitoreo continuo, como en el seguimiento de la producción de ácido láctico durante procesos fermentativos o en el análisis de muestras biológicas.
- **Versatilidad en Aplicaciones:** La voltametría se puede aplicar en una amplia gama de matrices, lo que la hace adecuada para diversas áreas, incluyendo la industria alimentaria, la biotecnología y la medicina. Por ejemplo, se puede utilizar para analizar el contenido de ácido láctico en productos lácteos, bebidas fermentadas o incluso en fluidos corporales como sangre y orina.
- **Facilidad de Uso y Portabilidad:** Los dispositivos electroquímicos son generalmente compactos y fáciles de operar, lo que permite su uso en el campo. Esto es particularmente ventajoso para aplicaciones donde se requiere movilidad y la capacidad de realizar análisis in situ.

Aplicaciones en Diferentes Matrices

La versatilidad de los métodos electroquímicos se refleja en su capacidad para analizar el ácido láctico en diversas matrices:

- **Muestras Biológicas:** En el ámbito médico, la medición de ácido láctico en sangre es crucial para evaluar el estado metabólico de un paciente, especialmente en condiciones de hipoxia o sepsis.

- **Industria Alimentaria:** La detección de ácido láctico es fundamental en la producción de productos lácteos fermentados, donde se requiere un control preciso de la fermentación para garantizar la calidad y seguridad del producto final.
- **Biotecnología:** En procesos de fermentación industrial, el monitoreo del ácido láctico permite optimizar las condiciones de producción y mejorar el rendimiento de los cultivos celulares.

Análisis Térmico

- **Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)**

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se utiliza para estudiar las propiedades térmicas del ácido láctico.

Principio: Mide la cantidad de energía requerida para aumentar la temperatura de una muestra en comparación con una referencia, proporcionando información sobre transiciones de fase, como la fusión y la cristalización.

Ventajas: Útil para caracterizar la estabilidad térmica y las propiedades de fusión del ácido láctico.

La caracterización del ácido láctico es esencial para comprender sus propiedades y aplicaciones en diversas industrias. Los métodos mencionados proporcionan herramientas efectivas para su análisis, cada uno con sus ventajas y limitaciones. La elección del método adecuado dependerá del objetivo específico del estudio y de las características de la muestra.

2.4.1 RENDIMIENTO

El rendimiento de la síntesis del ácido láctico a partir de la leche de vaca es un aspecto crucial que determina la viabilidad económica y técnica del proceso. A continuación, se analizan varios factores que influyen en el rendimiento de esta síntesis, así como consideraciones sobre el proceso de fermentación. La cantidad de lactosa presente en la leche es fundamental para el rendimiento de ácido láctico. La leche de vaca, y en

particular la variedad suizo americano, tiene un alto contenido de lactosa, lo que favorece una mayor producción de ácido láctico. Un aumento en la concentración de lactosa generalmente se traduce en un mayor rendimiento.

La cantidad de lactosa presente en la leche es fundamental para el rendimiento del ácido láctico. La leche de vaca, y en particular la variedad suizo americano, tiene un alto contenido de lactosa, lo que favorece una mayor producción de ácido láctico. Un aumento en la concentración de lactosa generalmente se traduce en un mayor rendimiento. La temperatura óptima para la fermentación suele estar entre 30 y 40 grados Celsius. Temperaturas demasiado altas o bajas pueden inhibir la actividad de las bacterias lácticas, afectando negativamente el rendimiento.

Un pH adecuado (generalmente entre 5.5 y 6.5) es esencial para el crecimiento de las bacterias lácticas y la producción de ácido láctico. Un pH demasiado ácido puede inhibir la actividad bacteriana. Reddy, N., & Yang, Y. (2015). El tiempo que se permite la fermentación también influye en el rendimiento. Generalmente, un tiempo de fermentación más prolongado puede aumentar la producción de ácido láctico, pero también puede llevar a la acumulación de subproductos que pueden inhibir la fermentación. En condiciones óptimas, se puede lograr una conversión de lactosa a ácido láctico de aproximadamente 80-90%. Sin embargo, este porcentaje puede variar dependiendo de los factores mencionados anteriormente. La inclusión de suero de leche en el proceso de fermentación no solo ayuda a reducir residuos, sino que también puede contribuir a un aumento en el rendimiento del ácido láctico debido a su contenido adicional de lactosa y nutrientes que favorecen el crecimiento bacteriano. En entornos industriales, el rendimiento de la síntesis de ácido láctico puede variar, pero muchas instalaciones reportan rendimientos que oscilan entre 50 y 70 g de ácido láctico por litro de sustrato fermentado.

Las mejoras en la tecnología de fermentación y el uso de biorreactores optimizados pueden aumentar estos rendimientos. La eficiencia del proceso de síntesis de ácido láctico es un factor determinante en su viabilidad económica. Un mayor rendimiento no solo reduce los costos de producción, sino que también mejora la competitividad del ácido láctico frente a otros ácidos y productos químicos. La producción de ácido láctico

a partir de leche de vaca y suero de leche no solo tiene implicaciones económicas, sino también medioambientales. Un alto rendimiento en la síntesis significa un uso más eficiente de los recursos, contribuyendo a la sostenibilidad de la industria láctea. Al maximizar el rendimiento del ácido láctico, se minimiza la cantidad de residuos generados en el proceso, lo que es beneficioso tanto desde un punto de vista económico como ambiental. Kwan, H. Y., & Lee, K. J. (2018).

2.4.2 ACIDEZ TITULABLE

La acidez titulable es un parámetro crucial en la evaluación de la calidad de la leche y en la producción de productos lácteos fermentados, como el ácido láctico. Este concepto se refiere a la cantidad de ácido presente en un producto que puede ser neutralizada por una base fuerte, y es un indicador importante de la frescura y la fermentación de la leche. A continuación, se analizan en profundidad los aspectos relacionados con la acidez titulable, su medición, su relevancia en la producción de ácido láctico y su impacto en la industria láctea. La acidez titulable se define como la cantidad de ácido (generalmente expresada en gramos de ácido láctico por litro) que puede ser neutralizada por una base fuerte, como el hidróxido de sodio (NaOH). (Reddy, N., & Yang, Y. 2015)

Este parámetro se mide mediante un procedimiento de titulación, donde se añade una solución de NaOH a una muestra de leche hasta alcanzar un pH específico, generalmente alrededor de 8.3. La acidez titulable es un indicador clave de la calidad de la leche. Un aumento en la acidez puede indicar la presencia de microorganismos que fermentan la lactosa, produciendo ácido láctico y, por ende, afectando la frescura de la leche. En general, la leche fresca tiene una acidez titulable de aproximadamente 0.12-0.16% (120-160 mg de ácido láctico por 100 mL). (Reddy, N., & Yang, Y. 2015)

En la producción de ácido láctico, la acidez titulable permite monitorear el progreso de la fermentación. Un aumento en la acidez titulable indica que las bacterias lácticas están activamente fermentando la lactosa y produciendo ácido láctico. La acidez titulable también influye en las características organolépticas del producto final, como el sabor y la textura. Productos lácteos con una acidez adecuada suelen tener un sabor

más agradable y son más aceptables para los consumidores. (Kwan, H. Y., & Lee, K. J. 2018)

La presencia de diferentes cepas de bacterias lácticas puede influir en la producción de ácido. Algunas cepas son más eficientes en la fermentación de lactosa, lo que resulta en un aumento más rápido de la acidez titulable. La temperatura y el tiempo de almacenamiento de la leche afectan su acidez. La leche almacenada a temperaturas inadecuadas puede fermentar más rápidamente, aumentando su acidez titulable. La composición química de la leche, incluidos los niveles de grasa y proteínas, también puede influir en la acidez titulable. Por ejemplo, la leche con un mayor contenido de grasa puede tener una menor acidez titulable debido a la emulsificación de los ácidos. (Food and Agriculture Organization (FAO). 2013)

2.4.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica poderosa utilizada para identificar y caracterizar compuestos químicos basándose en la absorción de radiación infrarroja por las moléculas. Esta técnica ha encontrado aplicaciones en diversas áreas, incluyendo química, biología, ciencia de materiales y farmacología. A continuación, se presenta un análisis detallado de la FTIR, su funcionamiento, aplicaciones y ventajas, así como referencias relevantes.

La espectroscopía FTIR se basa en el principio de que las moléculas absorben energía en forma de radiación infrarroja, lo que provoca vibraciones en los enlaces químicos. Estas vibraciones pueden ser clasificadas en tres tipos principales:

Estiramiento: Cambio en la longitud del enlace.

Flexión: Cambio en el ángulo entre enlaces.

Torsión: Rotación de grupos funcionales alrededor de enlaces.

Cuando una molécula es irradiada con luz infrarroja, solo ciertas longitudes de onda son absorbidas, lo que produce un espectro que es característico de la estructura molecular del compuesto.

- **Funcionamiento de la FTIR**

La FTIR utiliza un interferómetro, típicamente de Michelson, que permite medir la luz infrarroja en múltiples longitudes de onda simultáneamente. El proceso se puede resumir en los siguientes pasos:

Generación de la Radiación Infrarroja: Se utiliza una fuente de radiación infrarroja que emite un amplio espectro de longitudes de onda.

Interferómetro: La luz infrarroja se divide en dos caminos; uno se refleja en un espejo fijo y el otro en un espejo móvil. Al recombinarse, se genera un patrón de interferencia.

Detección: La luz que pasa a través de la muestra se mide con un detector. El detector registra la intensidad de la luz en función del tiempo, generando un interferograma.

Transformada de Fourier: Se aplica la transformada de Fourier al interferograma para convertir los datos en un espectro que muestra la absorbancia en función de la longitud de onda o número de onda.

- **Espectro FTIR**

El espectro resultante es un gráfico que muestra la absorbancia (o transmitancia) en el eje vertical y el número de onda (cm^{-1}) en el eje horizontal. Las bandas de absorción en el espectro corresponden a las vibraciones de los enlaces en las moléculas del compuesto analizado. Cada compuesto tiene un espectro característico que puede ser utilizado para su identificación.

- **Aplicaciones de la FTIR**

La espectroscopía FTIR tiene una amplia gama de aplicaciones, que incluyen:

Identificación de Compuestos: Se utiliza para identificar compuestos orgánicos e inorgánicos en diversas matrices, desde productos químicos hasta materiales biológicos.

Análisis de Polímeros: Permite caracterizar la composición y estructura de polímeros, así como detectar aditivos y contaminantes.

Control de Calidad: En la industria farmacéutica, se utiliza para verificar la pureza de los compuestos y la calidad de los productos.

Estudios Ambientales: Se aplica en el análisis de contaminantes en el aire, agua y suelo.

Investigación Biomédica: Utilizada para estudiar interacciones biomoleculares, como proteínas y ácidos nucleicos.

- **Ventajas de la FTIR**

Rapidez: La FTIR permite obtener resultados en tiempo real y con un mínimo de preparación de la muestra.

Sensibilidad: Es capaz de detectar concentraciones muy bajas de compuestos.

No Destructiva: La técnica puede ser no destructiva, permitiendo el análisis de muestras valiosas.

Versatilidad: Se puede aplicar a sólidos, líquidos y gases.

- **Limitaciones de la FTIR**

La presencia de agua y otros compuestos puede interferir con la absorción en ciertas regiones del espectro. En mezclas complejas, la interpretación del espectro puede ser difícil. Para cuantificar la concentración de un compuesto, es necesario realizar calibraciones adecuadas.

CAPÍTULO 3

ANTECEDENTES

La leche de vaca ha sido ampliamente investigada como una fuente potencial para la producción de ácido láctico, dado su alto contenido de lactosa. A continuación, se presentan algunos estudios significativos que respaldan esta idea.

En un estudio se proporciona una visión detallada sobre la composición de la leche de vaca, con un enfoque particular en la lactosa, un disacárido que representa aproximadamente el 4.5% del contenido total de la leche. Este porcentaje es significativo, ya que la lactosa no solo es un componente nutricional clave, sino que también actúa como un sustrato ideal para procesos fermentativos. Se encontraron que, bajo condiciones óptimas, la fermentación de lactosa por cepas de *Lactobacillus* puede resultar en rendimientos de ácido láctico de hasta el 90%. Este alto rendimiento es crucial no solo para la eficiencia del proceso, sino también para la viabilidad económica de la producción de ácido láctico. [41]

Se realizó una exhaustiva evaluación de la capacidad de diversas cepas de *Lactobacillus* para fermentar la lactosa que se encuentra presente en la leche de vaca. Este análisis es fundamental, ya que la efectividad de la fermentación láctica depende en gran medida de las características específicas de cada cepa bacteriana y su habilidad para metabolizar la lactosa, un azúcar que, aunque abundante en la leche, puede ser difícil de fermentar para algunas bacterias. seleccionaron múltiples cepas de *Lactobacillus* y las sometieron a condiciones controladas de cultivo para observar su rendimiento en la conversión de lactosa en ácido láctico.

Estos experimentos se llevaron a cabo en un entorno donde se pudieron ajustar variables como la temperatura, el pH y el tiempo de fermentación, lo que permitió a los científicos identificar las condiciones óptimas para cada cepa. Los hallazgos del estudio revelaron que entre las cepas analizadas, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus delbrueckii* se destacaron por su notable eficacia. Estas cepas no solo mostraron una capacidad superior para fermentar la lactosa, sino que también lograron una conversión rápida y eficiente, transformando la lactosa en ácido láctico en un tiempo

significativamente menor en comparación con otras cepas. La *Lactobacillus plantarum*, en particular, es conocida por su versatilidad y adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, lo que la convierte en una opción preferida en la industria de fermentación. Esta cepa no solo fermenta la lactosa de manera eficiente, sino que también puede sobrevivir en condiciones adversas, lo que la hace ideal para aplicaciones industriales.

Por otro lado, *Lactobacillus delbrueckii* es reconocida por su capacidad para producir grandes cantidades de ácido láctico en un corto período de tiempo. Su eficiencia en la conversión de lactosa la convierte en una opción valiosa para procesos que requieren una producción rápida de ácido láctico, como en la elaboración de productos lácteos fermentados y otros alimentos. [42]

Se ha explorado de manera exhaustiva el potencial del suero de leche como una fuente valiosa de lactosa para la producción de ácido láctico. Este enfoque no solo tiene implicaciones económicas, sino que también promueve prácticas sostenibles dentro de la industria láctea. El suero de leche es el líquido que queda después de la coagulación de la leche durante la producción de queso. Este subproducto contiene una amplia gama de nutrientes, incluyendo proteínas, vitaminas y minerales, además de lactosa. La lactosa en el suero de leche representa una oportunidad única, ya que puede ser fermentada por diversas cepas de bacterias lácticas para producir ácido láctico. Este proceso no sólo añade valor al suero, sino que también ayuda a mitigar el desperdicio en la industria láctea. La investigación ha demostrado que el suero de leche puede ser fermentado de manera efectiva para producir ácido láctico.

En este proceso, las cepas de *Lactobacillus*, como *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus delbrueckii*, son inoculadas en el suero. Estas bacterias son capaces de metabolizar la lactosa presente en el suero, convirtiéndola en ácido láctico a través de un proceso de fermentación anaeróbica. [43]

Se destacan las diversas aplicaciones del ácido láctico, un compuesto producido a partir de la fermentación de la lactosa presente en la leche de vaca. Este ácido, que se obtiene principalmente a través de cepas de *Lactobacillus*, ha ganado atención en múltiples sectores, particularmente en la industria alimentaria y farmacéutica, debido a

sus propiedades únicas y beneficios. Una de las aplicaciones más importantes del ácido láctico es su uso como conservante natural. Debido a sus propiedades antimicrobianas, el ácido láctico puede inhibir el crecimiento de bacterias patógenas y hongos, lo que ayuda a prolongar la vida útil de los productos alimenticios.

Esto es especialmente relevante en la producción de alimentos fermentados, como yogur, chucrut y encurtidos, donde el ácido láctico no solo actúa como conservante, sino que también contribuye al sabor característico y a la textura de estos productos. En la industria farmacéutica, el ácido láctico se utiliza como un intermediario en la síntesis de medicamentos. Su capacidad para actuar como un agente quelante y su compatibilidad con otros compuestos químicos lo hacen valioso en la formulación de diversos productos farmacéuticos. Además, el ácido láctico se utiliza en la producción de formulaciones inyectables y en la encapsulación de fármacos, mejorando la biodisponibilidad de los medicamentos. [44]

El estudio se centró en la microbiología de la fermentación láctica, un proceso fundamental en la producción de ácido láctico a partir de leche de vaca. Este trabajo es significativo no solo por su contribución al entendimiento de las dinámicas microbiológicas involucradas, sino también por su potencial para mejorar los rendimientos en la producción de ácido láctico, un compuesto de gran relevancia en diversas industrias, incluyendo la alimentaria y la farmacéutica.

Los resultados del estudio revelaron hallazgos significativos sobre la influencia de las condiciones de cultivo y las cepas bacterianas en la producción de ácido láctico. Los investigadores encontraron que el pH óptimo para la producción de ácido láctico variaba según la cepa utilizada. En general, un pH ligeramente ácido (alrededor de 5.5) favoreció la actividad de la mayoría de las cepas estudiadas. Sin embargo, algunas cepas mostraron un rendimiento superior en rangos de pH más bajos, lo que sugiere que la selección de la cepa adecuada es crucial para maximizar la producción. [45]

Se enfatiza que el uso de la leche de vaca y sus subproductos para la producción de ácido láctico no solo contribuye a prácticas más sostenibles en la industria láctea, sino que también mejora la eficiencia económica del proceso. Este enfoque representa una oportunidad significativa para reducir residuos, optimizar recursos y diversificar

productos, lo que resulta en beneficios tanto económicos como ambientales. A medida que la industria láctea enfrenta desafíos crecientes relacionados con la sostenibilidad y la eficiencia, la implementación de prácticas que aprovechen al máximo los recursos disponibles se vuelve cada vez más crucial. La producción de ácido láctico a partir de leche de vaca y sus subproductos se posiciona como una solución viable y beneficiosa que puede transformar la industria hacia un futuro más sostenible. [46]

Objetivo General

- Sintetizar ácido láctico a partir de leche bronca de vaca, como fuente de PLA para recubrimiento de fármacos.

Objetivos Específicos

- Sintetizar ácido láctico a partir de leche bronca de vaca mediante fermentación bacteriana
- Caracterizar fisicoquímicamente el ácido láctico.

JUSTIFICACIÓN

La industria farmacéutica produce una amplia gama de medicamentos para el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, muchos de estos fármacos presentan efectos secundarios indeseables, como intoxicaciones y daños en el sistema digestivo, incluyendo gastritis. Esto resalta la necesidad urgente de desarrollar nuevos recubrimientos que optimicen el transporte de medicamentos en el organismo humano, minimizando así los efectos adversos.

El ácido láctico, un compuesto orgánico que se genera durante la fermentación de la lactosa, se convierte en un elemento clave. Este ácido es el precursor del poli(ácido) láctico (PLA), un biopolímero que ha demostrado ser prometedor en aplicaciones farmacéuticas. El PLA es conocido por su biocompatibilidad y biodegradabilidad, características que lo hacen ideal para el desarrollo de recubrimientos de fármacos. Estos recubrimientos pueden mejorar la estabilidad de los medicamentos y permitir una liberación controlada, lo que puede revolucionar los tratamientos médicos al optimizar la eficacia y reducir los efectos secundarios.

La capacidad de utilizar ácido láctico derivado de fuentes naturales, como la leche bronca, ofrece una solución sostenible a la producción de PLA. La leche cruda, a menudo utilizada en la industria láctea, representa una oportunidad valiosa para obtener ácido láctico de manera eficiente. Esta síntesis no solo contribuye a la producción de un biopolímero biodegradable, sino que también responde a la creciente demanda de materiales más responsables y respetuosos con el medio ambiente.

La producción de plásticos convencionales a partir de recursos fósiles está asociada con problemas ambientales significativos, como la contaminación y el agotamiento de estos recursos. Al optar por el ácido láctico derivado de la leche bronca, se promueve una alternativa sostenible que se alinea con las tendencias actuales hacia prácticas más ecológicas en la industria.

Por lo tanto, el objetivo de este proyecto es caracterizar el LA como fuente de PLA, obtenido de leche cruda, explorando su posible aplicación como recubrimientos de fármacos. Esta iniciativa no solo tiene el potencial de mejorar la formulación y liberación de medicamentos, sino que también representa un avance significativo hacia tratamientos más seguros y eficaces, impactando positivamente en la salud pública y promoviendo un enfoque más sostenible en la producción farmacéutica.

CAPÍTULO 4.

METODOLOGÍA

4.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Recolección de Muestra de Leche Bronca
2. Filtración y Concentración: Filtración Inicial: Medir 100 ml de la muestra pura de leche bronca y filtrar con un filtro de papel o un tamiz fino para eliminar impurezas como pelos, sedimentos y partículas grandes.
3. Incubación: Incubar la muestra filtrada a 30 °C durante 24 horas sin agitación. Este paso permite que los microorganismos presentes en la leche comienzan a proliferar, lo que es crucial para el proceso de fermentación posterior.
4. Coagulación de la Muestra: Después de la incubación, dejar reposar la muestra filtrada durante 24 horas adicionales. Este periodo de reposo permite que la leche coagule, formando una cuajada que se separa del suero.
5. Adición de Enzimas: Una vez que la leche ha coagulado, agregar 100 g de enzima (celulasa) a la cuajada. Esta enzima ayudará a descomponer las proteínas de la leche, facilitando la formación de una cuajada más firme.

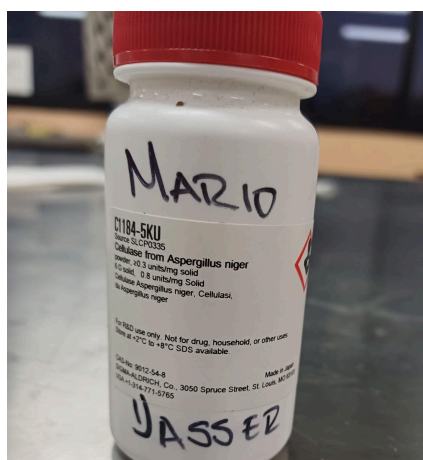


Figura 9. Enzima celulasa

6. Verter la mezcla en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Asegurarse de que el matraz esté limpio y seco para evitar contaminaciones.

7. Incubación y Agitación: Utilizar una incubadora para mantener la muestra a 50 °C y 65 RPM (revoluciones por minuto) durante 24 horas. Esta temperatura es ideal para la actividad enzimática y promueve la coagulación adecuada de la leche.
8. Asegurarse de que la agitación sea constante para permitir una distribución uniforme de la enzima en la mezcla.
9. Filtración Final: Pasadas las 24 horas, utilizar una bomba al vacío para filtrar nuevamente la muestra. Este proceso ayuda a separar la cuajada del suero, obteniendo un líquido más limpio y concentrado. Asegurarse de que el sistema de filtración esté correctamente sellado para evitar pérdidas de muestra.
10. Fermentación: Transferir el líquido obtenido a un frasco de fermentación.
11. Añadir 10 g de levadura (*Lactobacillus* spp.), que es esencial para la fermentación láctica. Esta levadura convertirá los azúcares de la leche en ácido láctico, lo que ayuda a preservar el producto y le da su sabor característico.



Figura 10. Levadura (*Lactobacillus* spp)

12. Agregar 10.5 g/L de nutrientes (calcio) para proporcionar los elementos necesarios para el crecimiento de las levaduras.

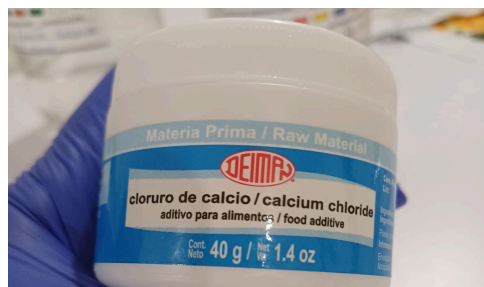


Figura 11. Nutriente (calcio)

13. Incubar la mezcla a 37 °C y 65 RPM durante 48 horas con agitación. Mantener el pH entre 5 y 6, ya que este rango es óptimo para la actividad de *Lactobacillus* y favorece la producción de ácido láctico.

14. Repetición del Procedimiento

15. Procedimiento: Realizar el mismo procedimiento con otras dos muestras de leche bronca, siguiendo los mismos pasos descritos anteriormente. Esto permite comparar los resultados y determinar la variabilidad entre diferentes lotes de leche.

Acidez titulable:

1. Preparar las muestras: Tomar 5 gramos de cada muestra que se desea analizar. Es importante asegurar que las muestras sean representativas del producto total que se está evaluando.
2. Colocar los 5 gramos de cada muestra en matraces separados.
3. Dilución de las Muestras: Completar cada matraz con 50 ml de agua destilada. Esta dilución es esencial para facilitar la titulación, ya que permite que el ácido presente en la muestra se disuelva completamente y sea accesible para la reacción con el hidróxido de sodio.
4. Asegurarse de mezclar bien la solución para que el ácido se distribuya uniformemente.
5. Medición de Agua Destilada: Colocar 45 ml de agua destilada en una probeta. Este paso es útil para estandarizar el volumen de solución que se utilizará en cada matraz.
6. Vaciar 45 ml de agua destilada en cada uno de los matraces que contienen las muestras. Esto asegura que cada matraz tenga un volumen igual de solución diluida, lo que es crucial para obtener resultados consistentes y comparables.
7. Adición del Indicador: Añadir 3 gotas del indicador proporcionado a cada matraz. El indicador es fundamental para visualizar el punto final de la titulación. Por

ejemplo, la fenolftaleína cambia de incoloro a rosa en un pH de aproximadamente 8.2, mientras que el naranja de metilo cambia de rojo a amarillo alrededor de un pH de 3.1 a 4.4.

8. Preparar la Bureta: Llenar la bureta con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N. Asegúrate de que no haya burbujas de aire en la bureta, ya que esto puede afectar la precisión del volumen dispensado.
9. Ajustar la bureta a una posición cómoda y asegurarse de que el fondo del menisco esté alineado con la línea de lectura.
10. Titulación: Comenzar a verter el hidróxido de sodio gota a gota en el matraz que contiene la muestra y el indicador. Es importante hacerlo lentamente, especialmente cuando se aproxima al punto de cambio de color, para evitar sobrepasar el punto final.
11. Continuar añadiendo el NaOH hasta que se observe un cambio de color fijo. Este cambio indica que se ha alcanzado el punto de equivalencia, donde todo el ácido presente en la muestra ha reaccionado con el hidróxido de sodio.
12. Registrar el volumen de NaOH utilizado para alcanzar este punto. Este volumen es crucial para calcular la acidez titulable.

FTIR

1. Con el objetivo de caracterizar y verificar los grupos funcionales en la extracción del LA, se realizó el análisis de espectroscopia FTIR. Para los especímenes se prepararon pastillas de 100 mg de KBr, a las que se les depositó una gota del LA, y luego se prensó la mezcla en una tableta. El espectro FTIR de las muestras se midió a temperatura ambiente usando un espectrómetro Thermo Nicolet (Nexus 670-FTIR) en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , y 100 barridos. El análisis se hizo por triplicado.

4.2 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

Para comenzar, se llevó a cabo un proceso de filtración de 100 ml de leche cruda, utilizando una bomba de vacío. Este método se implementó con el objetivo de separar las impurezas presentes en la leche, que pueden afectar tanto su calidad como su seguridad. Además, se filtraron otras 2 muestras de la misma cantidad que la primera, lo que permitió obtener un total de 3 resultados.



Figura 12. Filtración de leche cruda o bronca

Al finalizar este proceso de filtración, se pudo observar que, aunque se había logrado una notable reducción de impurezas, aún quedaba una pequeña cantidad de estas en la leche.



Figura 13. Pequeña cantidad de impureza

A continuación, se vierte la muestra en un matraz erlenmeyer de 250 ml para concentrar, se optó por el método de ultrafiltración. Este procedimiento se realizó a una temperatura ambiente de 30°C. La ultrafiltración es una técnica efectiva que permite concentrar las proteínas de la leche mientras se elimina el agua. Este enfoque no solo ayuda a aumentar la concentración de los componentes deseados, sino que también se asegura de que la calidad de los mismos se mantenga, preservando así las propiedades nutritivas de la leche.



Figura 14. Concentración a temperatura ambiente

Una vez que las tres muestras hayan alcanzado el estado de coagulación (figura 15), procedimos a agregar 100 g de enzima celulasa a cada una de las muestras (figura 16), y mezclamos nuevamente (figura 17). La celulasa es una enzima crucial en este proceso, ya que facilita la descomposición de las fibras celulares presentes en las muestras. Asegurándonos de que la enzima se distribuya de manera uniforme en cada muestra, lo que optimizará su efectividad y garantizará una reacción adecuada en las etapas posteriores del procedimiento.

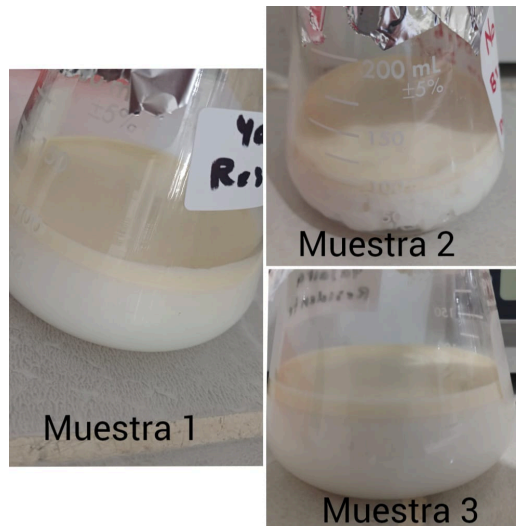


Figura 15. Estado de coagulación



Figura 16. Incorporación de la enzima a la muestra



Figura 17. Mezclar homogéneamente

Una vez que se haya agregado la enzima celulasa a cada una de las tres muestras, el siguiente paso fue colocar las muestras en la incubadora esto para poder proporcionarle un ambiente controlado que favorezca la actividad enzimática. Ajustando la temperatura de la incubadora a 50°C, ya que esta temperatura es óptima para la acción de la célula. Además, se estableció una velocidad de agitación de 65 (RPM). Esta agitación constante permitió que las muestras se mezclen de manera uniforme, facilitando así el contacto entre la enzima y las estructuras celulares que se están descomponiendo.

El proceso de incubación se llevará a cabo durante un período de 24 horas. Durante este tiempo, se espera que la enzima actúe de manera efectiva, promoviendo la descomposición de las fibras celulares y optimizando la extracción de los componentes deseados de las muestras. Es importante monitorear las condiciones de la incubadora para asegurar que se mantengan constantes y adecuadas a lo largo de todo el proceso.



Figura 18. Incubación por 24 horas

Después de 24 horas, se filtraron las muestras utilizando una bomba de vacío. Este proceso permite separar los sólidos del líquido, garantizando una adecuada purificación de los componentes deseados.



Figura 19. Filtración después de las 24 horas

4.3 FERMENTACIÓN Y RECOLECCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO

Una vez que se ha completado el proceso de filtración, el siguiente paso consistió en transferir el líquido obtenido a un frasco de fermentación (figura 20). Este frasco servirá como el medio en el que se llevará a cabo la fermentación. A continuación, se agregaron 10 g de levadura, específicamente de la especie *Lactobacillus* spp. (figura 21), que es conocida por su capacidad para fermentar azúcares y producir ácido láctico. Además, se incorporarán 10.5 g/L de nutrientes, en forma de calcio (figura 22), para proporcionar los elementos esenciales que favorezcan el crecimiento y la actividad metabólica de las levaduras. Una vez que se han añadido todos los componentes se mezcla todo suavemente, para luego proceder a incubar el frasco a una temperatura constante de 37°C durante un período de 48 horas.

Es fundamental mantener el pH del medio entre 5 y 6 durante toda la incubación, ya que este rango es óptimo para la actividad de *Lactobacillus* spp. y garantiza un entorno favorable para la fermentación.

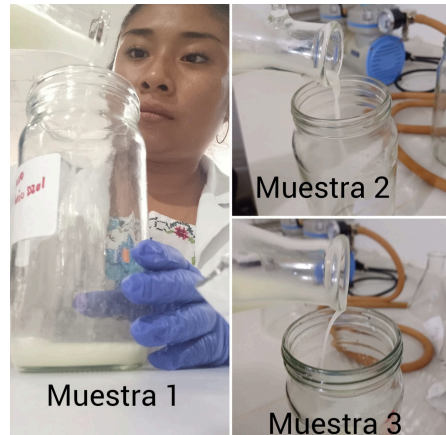


Figura 20. Líquido obtenido en frasco de fermentación



Figura 21. Incorporación de levadura (*Lactobacillus* spp.)

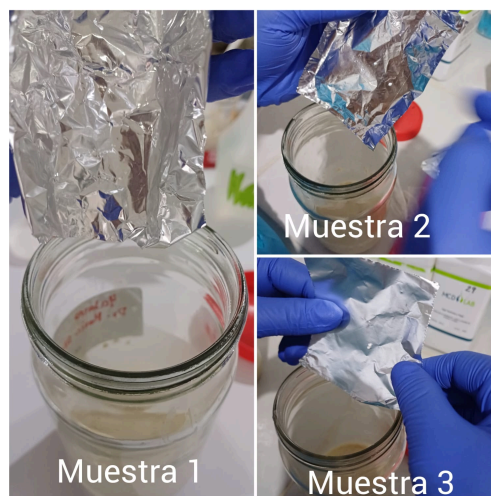


Figura 22. Incorporación de nutrientes (calcio)

Una vez que se han añadido todos los componentes se mezcla todo suavemente, para luego proceder a incubar el frasco a una temperatura constante de 37°C durante un período de 48 horas. Es fundamental mantener el pH del medio entre 5 y 6 durante toda la incubación, ya que este rango es óptimo para la actividad de *Lactobacillus* spp. y garantiza un entorno favorable para la fermentación.



Figura 23. Incubación por 48 horas

4.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El primer estudio aborda la producción de ácido láctico mediante la fermentación anaerobia, enfocándose en las cepas bacterianas utilizadas y sus respectivos rendimientos. En este estudio, se presentaron curvas de crecimiento para diferentes cepas de bacterias lácticas, destacando las fases de crecimiento y la producción de ácido láctico. Se analizaron los tiempos de consumo de lactosa y la producción de ácido láctico, obteniendo rendimientos específicos para cada cepa. Además, se mencionó el uso de técnicas de separación y concentración del ácido láctico, como microfiltración y ósmosis inversa, logrando concentraciones significativas.

El segundo estudio se centra en la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de leche cruda, prestando especial atención al control del pH y al análisis de la acidez titulable. En este estudio, se utilizó un 30% de leche, equivalente a 300 ml,

para la fermentación, mientras que un 70% fue desperdiciado. Se realizó un monitoreo constante del pH, manteniéndolo entre 5 y 6, un rango crucial para la actividad de las levaduras. Además, se llevaron a cabo pruebas de acidez titulable, las cuales mostraron variaciones en los resultados entre las diferentes muestras. Para caracterizar el ácido láctico, se empleó FTIR, lo que permitió identificar grupos funcionales relevantes.

Al comparar ambos estudios, se observaron similitudes y diferencias en sus enfoques. En cuanto a las similitudes, ambos estudios se centran en la producción de ácido láctico a partir de fermentación, aunque utilizan diferentes enfoques y sustratos. Además, tanto el primer estudio como el segundo destacan la importancia del control de parámetros como el pH y el tiempo de fermentación para maximizar la producción de ácido láctico. Ambos estudios también emplean métodos analíticos para evaluar la calidad y cantidad del ácido láctico producido; el segundo estudio utiliza FTIR, mientras que el primer estudio se basa en curvas de crecimiento.

El primer estudio proporciona un análisis más detallado de diferentes cepas de bacterias lácticas y sus rendimientos específicos, mientras que la tesis se centra más en el proceso general y el monitoreo del pH. El segundo estudio utiliza leche cruda como sustrato principal, mientras que el primer estudio menciona el uso de suero de leche y otros medios de fermentación. Finalmente, el segundo estudio menciona el desperdicio de leche y la división de la muestra, mientras que el segundo documento detalla un proceso más exhaustivo de separación y concentración del ácido láctico utilizando membranas.

Aunque ambos estudios abordan la producción de ácido láctico desde diferentes perspectivas, juntos ofrecen un panorama más completo sobre los métodos y resultados en este campo de estudio.

4.4.1 Rendimiento de la síntesis

De un total de 1 L de leche, se utilizó un 30% (300 ml), mientras que un 70% (700 ml) fue desperdiciado. La cantidad utilizada se dividió en tres partes iguales, resultando en un 10% de la muestra total en cada matraz.

Cantidad Total de Leche: 1 L (1000 ml)

Leche Utilizada: 300 ml

- **División de la Leche Utilizada:**

- 100 ml

- 100 ml

- 100 ml

Desperdicio de Leche: 700 ml

- **Porcentajes**

Porcentaje de Leche Utilizada:

$$\text{Porcentaje utilizado} = \frac{300 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 100 = 30\%$$

Porcentaje de Desperdicio:

$$\text{Porcentaje desperdiciado} = \frac{700 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 100 = 70\%$$

- **Distribución en Matraz:**

Cada uno de los 3 matraces recibió:

$$\frac{100 \text{ ml}}{300 \text{ ml}} \times 100 = 10\% \text{ de la muestra total de leche}$$

4.4.2 Monitoreo de pH

Durante el proceso de incubación, las muestras fueron objeto de un monitoreo constante para asegurar que el pH se mantuviera dentro del rango óptimo de 5 a 6. Este seguimiento se realizó cada 6 horas a lo largo de los dos días de incubación.

El control regular del pH es crucial, ya que garantiza un ambiente adecuado para la actividad de las levaduras y favorece el desarrollo de la fermentación. Al registrar los

valores de pH en intervalos regulares, pudimos realizar ajustes necesarios para mantener condiciones ideales y maximizar la eficacia del proceso.

<i>Muestra</i> <i>Día</i>	Día 1	Día 1	Día 2	Día 2
1	5.04	5.26	5.05	5.13
2	5.06	5.65	5.00	5.14
3	5.07	5.12	5.02	5.17

Tabla 1. Monitoreo de pH

4.4.3 Acidez titulable

En el procedimiento de acidez titulable, se llevaron a cabo dos pruebas utilizando las mismas tres muestras con el objetivo de obtener resultados más confiables y precisos.

Para calcular el porcentaje de acidez titulable en la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{\text{Volumen gastado de NaOH} \times 0,1\text{N} \times \text{meq. ácido} \times 100}{\text{Volumen de la muestra (g)}}$$

Figura 24. Fórmula para calcular el porcentaje de acidez

Primera Prueba

Durante la primera prueba, se registraron los siguientes porcentajes de acidez para cada muestra:

Primera muestra: Se obtuvo un porcentaje de acidez del 0.882.

Segunda muestra: Se registró un porcentaje de 0.720.

Tercera muestra: El porcentaje de acidez fue de 0.828.

Segunda Prueba



En la segunda prueba, se repitieron las mediciones con las mismas muestras, logrando los siguientes resultados:

Primera muestra: Se obtuvo nuevamente un porcentaje de acidez de 0.882, lo que indica consistencia en los resultados.

Segunda muestra: De igual manera, se registró el mismo porcentaje de 0.720, confirmando la reproducibilidad de los resultados.

Tercera muestra: Sin embargo, en esta ocasión, el porcentaje de acidez fue diferente al obtenido en la primera prueba, alcanzando un valor de 0.783.

4.4.4 Espectroscopia (FTIR)

Del proceso de extracción del ácido láctico, se tomó una gota que se aplicó a una pastilla de KBr para poder realizar la caracterización mediante FTIR (figura 17), En el espectro se puede observar el pico a 3345 cm^{-1} , el cual pudiera ser atribuido a la tensión el enlace -OH. La banda a 1652 cm^{-1} puede ser atribuida al enlace -C=O. La vibración de tensión asimétrica del enlace -COO en 1598 cm^{-1} ; también se puede observar la tensión de los enlaces -C-H y -CH₃ presentes en la molécula en el número de onda en 2922 cm^{-1} . En el pico a 1250 cm^{-1} así como la deformación de los enlaces -OH.

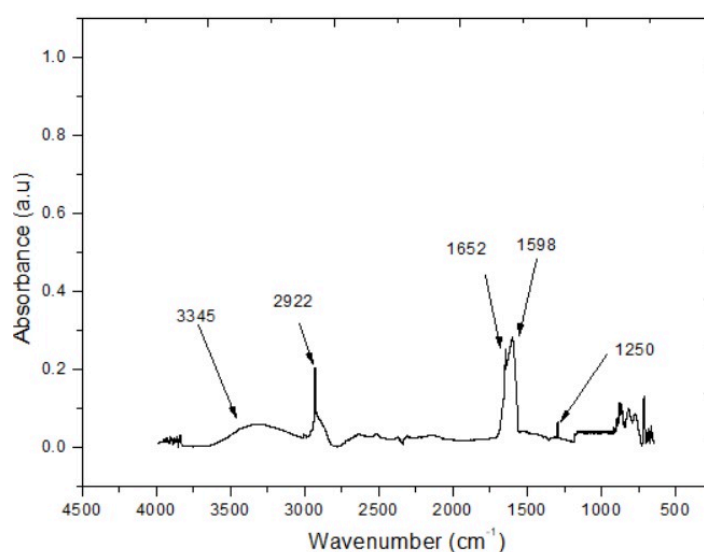


Figura 25. Espectro FTIR del ácido láctico obtenido

El análisis FTIR ha permitido identificar varios grupos funcionales presentes en el ácido láctico, confirmando su estructura química. La presencia de enlaces -OH, -C=O, y -COO es indicativa de las propiedades ácidas y la naturaleza de este compuesto. Estos hallazgos son fundamentales para comprender la química del ácido láctico y su aplicabilidad en diversas industrias, como la alimentaria y farmacéutica. La caracterización FTIR proporciona una herramienta efectiva para validar la pureza y la identidad de compuestos químicos en procesos de extracción y producción.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1 CONCLUSIÓN

La investigación realizada sobre el tratamiento de leche cruda ha permitido establecer un proceso efectivo para la separación de impurezas y la concentración de sus componentes. A través de la filtración y ultrafiltración, se logró reducir significativamente las impurezas, aunque se identificó la presencia de pequeñas cantidades residuales. La adición de enzima celulasa y el control de condiciones de incubación fueron cruciales para optimizar la descomposición de las fibras celulares, favoreciendo así la extracción de componentes deseados.

El monitoreo constante del pH durante el proceso de fermentación ha demostrado ser fundamental para garantizar un ambiente adecuado para la actividad de *Lactobacillus* spp., lo cual es esencial para la producción de ácido láctico.

Los resultados en la acidez titulable demuestran la importancia de realizar múltiples pruebas para validar la acidez titulable de las muestras. Mientras que las dos primeras muestras mostraron consistencia en sus porcentajes de acidez, la tercera muestra presentó una variación, lo que sugiere la necesidad de un análisis más detallado para entender las posibles causas de esta discrepancia.

El monitoreo del pH, junto con la medición de la acidez titulable y la caracterización por FTIR, ha demostrado ser un enfoque efectivo para evaluar y optimizar el proceso de fermentación del ácido láctico. Estos resultados no solo validan la pureza y la identidad del ácido láctico obtenido, sino que también proporcionan información valiosa para futuras investigaciones y aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica.

Este estudio establece un marco sólido para futuras investigaciones en la utilización del ácido láctico obtenido de leche cruda como fuente para la síntesis de PLA. Validar la calidad del ácido láctico, controlar las condiciones de fermentación y evaluar su aplicabilidad en formulaciones farmacéuticas son pasos esenciales para desarrollar productos innovadores y sostenibles en el ámbito de la biotecnología.

5.2 RECOMENDACIONES.

Es fundamental que el trabajo con la enzima celulasa se realice de manera ágil y eficiente. Esta enzima es extremadamente sensible y delicada, lo que significa que cualquier retraso en su manejo puede comprometer su actividad y eficacia. Por lo tanto, es crucial que se mantenga en condiciones adecuadas para preservar sus propiedades.

En particular, se debe asegurar que la celulasa se conserve en refrigeración en todo momento. Las temperaturas elevadas pueden desnaturalizar la enzima, reduciendo su capacidad para catalizar reacciones y, en consecuencia, afectando los resultados del proceso en el que se está utilizando. Por ello, es recomendable planificar cuidadosamente las etapas del trabajo para minimizar el tiempo que la enzima pasa a temperatura ambiente.

Es fundamental tener en cuenta que, antes de iniciar cualquier manipulación de la celulasa, es altamente recomendable llevar a cabo una preparación meticulosa de todos los materiales y reactivos necesarios. Esta práctica tiene varios beneficios importantes:

Procedimiento Fluido: Al contar con todos los elementos listos, se facilita la ejecución del procedimiento de manera continua, evitando interrupciones que podrían afectar la actividad enzimática.

Optimización de la Enzima: Preparar con antelación permite un uso más eficiente de la celulasa, maximizando su rendimiento y asegurando que se aprovechen al máximo sus propiedades catalíticas.

Resultados Confiables: Esta preparación no solo mejora la eficiencia, sino que también contribuye a obtener resultados confiables y consistentes en la investigación o aplicación en cuestión. Mantener un control sobre las condiciones experimentales es esencial para validar los hallazgos y garantizar la reproducibilidad de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Maraveas, C. (2020). Production of Sustainable and Biodegradable Polymers from
a. Agricultural Waste. *Polymers*, 12(5), 1127.
2. Mathew, S. A. (2023, 1 mayo). SYNTHESIS of BIO BASED MATERIAL FROM FRUIT WASTE OF ORANGE PEEL.
3. Krishnamurthy, A., & Amritkumar, P. (2019). Synthesis and characterization of eco-friendly bioplastic from low-cost plant resources. *SN Applied Sciences*, 1(11).
4. Bassani, A., Montes, S., Jubete, E., Palenzuela, J., Sanjuan, A. P., & Spigno, G. (2019). Incorporation of Waste Orange Peels Extracts Into Pla Films. *Chemical Engineering Transactions*, 74, 1063-1068.
5. Shah, A. A., & al. (2020). "Biopolymers: Types, Properties and Applications." *Materials Today: Proceedings*, 21, 123-129.
6. Bhat, T. A., & al. (2019). "Utilization of Agro-Industrial Waste for Production of Biopolymers." *Waste Management*, 95, 1-12.
7. Reddy, R. H. K. K. S. K. R., & al. (2021). "Lactic Acid Production from Lactose Using Lactobacillus Strains." *Journal of Dairy Science*, 104(5), 4932-4940.
8. Auras, R., & al. (2018). "Polylactic Acid: Synthesis, Properties, and Applications." John Wiley & Sons.
9. Kumar, V., & al. (2022). "Utilization of Whey for Lactic Acid Production: A Review." *Food Technology and Biotechnology*, 60(1), 1-12.
10. Gómez, A., & al. (2021). "Hyaluronic Acid: A Review of Its Applications in the Pharmaceutical Field." *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102210.
11. Tian, H., & al. (2020). "Applications of Gelatin in Pharmaceutical Formulations." *International Journal of Pharmaceutics*, 582, 119363.
12. Huang, Y., & al. (2021). "Nucleic Acid Nanoparticles for mRNA Delivery: Advances and Challenges." *Advanced Drug Delivery Reviews*, 178, 113968.
13. Reddy, N., & Yang, Y. (2015). "Production of Lactic Acid from Lactose Using Lactobacillus Strains." *Journal of Applied Microbiology*, 118(2), 345-356.

14. Kwan, H. Y., & Lee, K. J. (2018). "Optimization of Lactic Acid Production from Whey Using *Lactobacillus*." *Bioresource Technology*, 250, 790-797.
15. McFeeters, R. F. (2004). *Lactic Acid Bacteria in Food and Health*. CRC Press.
16. Ghosh, S. K. (2016). *Fermentation Technology: A Practical Approach*. Springer.
17. Davis, S. S., & al. (2019). "Hydrogels for Controlled Drug Delivery: A Review." *Pharmaceutical Research*, 36(1), 1-12.
18. Mao, Y., & al. (2020). "Biodegradable Polymers for Controlled Drug Release: A Review." *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1-12.
19. Hernández, M. R., & al. (2021). "Biodegradable Sutures: Innovations and Applications." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(2), 239-249.
20. Pérez, A., & al. (2020). "Lactic Acid Bacteria: A Review on Their Role in Food Fermentation and Health." *Microorganisms*, 8(9), 1361.
21. Mäkelä, M. R., & al. (2021). "Factors Affecting Lactic Acid Production by Lactic Acid Bacteria." *Food Microbiology*, 96, 103709.
22. Kumar, A., Singh, R., & Sharma, S. (2019). Utilización del suero de leche para la producción de plásticos biodegradables. *Waste Management*, 95, 1-10.
23. Cheng, Y., Zhang, L. y Wang, Z. (2022). Liberación controlada de fármacos a partir de sistemas basados en ácido poliláctico: una revisión. *Journal of Controlled Release*, 350, 1-15.
24. García, M., López, J., y Pérez, A. (2020). Polímeros biodegradables a partir de recursos renovables: una revisión. *Materials Today*, 34, 45-56.
25. McGee, H. (2004). *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*. Scribner.
26. Auras, R., Lim, L.-T., Selke, S. E. M., & Tsuji, H. (2010). *Poly(lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. Wiley.
27. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2012). *Biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman.
28. J. Vijayakumar; R. Aravindan; T. Viruthagiri, Recent trends in the production, purification and application of lactic acid, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 22, 245-264, 2008.

29. S. A. Ataei; E. Vashegani-Farahani, In situ separation of lactic acid from fermentation broth using ion exchange resins, *J Ind. Microbiol. Biotechnol.* , 35, 1229-1233, 2008.
30. K. W. Boddeker, *Membrane Filtration*, Springer, Berlín, 2008; p 63-80.
31. Y. Li; A. Shahbazi, Lactic acid recovery from cheese whey fermentation broth using combined ultrafiltration and nanofiltration membranes, *Appl. Biochem. Biotech.* , 6, 129-132, 2006.
32. J. Li; H. A. Chase, Applications of membrane techniques for purification of natural products, *Biotechnol. Lett.*, 32, 601-608, 2010.
33. F. Achmad; K. Yamane; S. Quan; T. Kokugan, Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators, *Chem. Eng. J* , 151, 342-350, 2009.
34. R. Datta; M. Henry, Review. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies, *J Chem. Technol. Biotechnol.*, 81, 1119-1129, 2006.
35. J. P. Guyot; M. Calderon; J. Morlon-Guyot, Effect of pH control on lactic acid fermentation of starch by *Lactobacillus manihotivorans* LMG 18010T, *J Appl. Microbiol.*, 88, 176-182, 2000.
36. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. (2006). In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Springer.
37. Reddy, C. A., & Yang, S. T. (1987). Lactic Acid Bacteria: Their Role in Food and Health. In *Food Microbiology* (pp. 147-168).
38. Tsuji, H. (2016). *Biodegradable Poly(lactic acid): Synthesis, Modification, and Applications*. Wiley.
39. Garlotta, D. (2002). "A Literature Review of Poly(Lactic Acid)." *Journal of Polymers and the Environment*, 9(2), 63-84.
40. Kaseem, M., Rehman, Z. U., Hossain, S., Singh, A. K., & Dikici, B. (2021). A Review on Synthesis, Properties, and Applications of Polylactic Acid/Silica Composites. *Polymers*, 13(18), 3036.
41. Reddy, N., & Yang, Y. (2015). "Production of Lactic Acid from Lactose Using *Lactobacillus* Strains." *Journal of Applied Microbiology*, 118(2), 345-356.

42. Kwan, H. Y., & Lee, K. J. (2018). "Optimization of Lactic Acid Production from Whey Using *Lactobacillus*." *Bioresource Technology*, 250, 790-797.
43. McFeeters, R. F. (2004). *Lactic Acid Bacteria in Food and Health*. CRC Press.
44. Ghosh, S. K. (2016). *Fermentation Technology: A Practical Approach*. Springer.
45. Pavan, S., et al. (2018). "Microbiological Aspects of Lactic Acid Production from Dairy Substrates." *International Journal of Dairy Technology*, 71(2), 404-411.
46. Food and Agriculture Organization (FAO). (2013). "The Role of Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods." *FAO Agricultural Services Bulletin*.
47. T. F. Bozoglu; B. Ray, *Lactic acid bacteria: current advances in metabolism, genetics and applications.*, New York, 1996; Vol. 98, p 403.
48. K. Tanaka; A. Komiyama; K. Sonomoto; A. Ishizaki; S. J. Hall; P. F. Stanbury, Two different pathways for D-xylose metabolism and the effect of xylose concentration on the yield coefficient of L-lactate in mixed-acid fermentation by the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* 10⁻¹, *Appl. Microbio!. Biotechnol*, 60, 160-167, 2002.
49. E. B. Gueguim-Kana; J. K. Oloke; a. Lateef; M. G. Zebaze-Kana, Novel optimal temperature profile for acidification process of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yoghurt fermentation using artificial neural network and genetic algorithm, *J Ind. Microbio!. Biotechnol.*, 34, 491-496, 2007.
50. K. Okano; T. Tanaka; C. Ogino; H. Fukuda; A. Kondo, Biotechnological production of enantiomeric pure lactic acid from renewable resources: recent achievements, perspectives, and limits, *Appl. Microbio!. Biotechnol.*, 85, 413-423, 2010.
51. S. Milcent; H. Carrere, Clarification of lactic acid fermentation broths, *Sep. Purif. technol.*, 22, 393-401, 2001.
52. Y. Li; A. Shahbazi; K. Williams; C. Wan, Separate and concentrate lactic acid using combination of nanofiltration and reverse osmosis membranes, *Appl. Biochem. Biotech.*, 147, 1-9, 2007.
53. 20. , hen; . ia, Lactic acid production from cellulosic waste by immobilized cells
54. of *Lactobacillus delbrueckii*, *World J Microbio!. Biotechnol.*, 22, 1109-1114, 2006.
55. 21 . K. Lee, Enhanced production of lactic acid by an adapted strain of *Lactobacillus*

56. *delbrueckii* subsp. *lactis*, World J Microbio!. Biotechnol., 23, 1317- 1320, 2007.
57. 22. A. Nancib; S. Nancib; J. Boudrant, Production of lactic acid from date juice extract
58. with free cells of single and mixed cultures of *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis*,
59. World J Microbio!. Biotechnol., 25, 1423-1429, 2009.
60. M. Ghasemi; G. Najafpour; M. Rahimnejad; P. A. Beigi; M. Sedighi; B. Hashemiyeh,
61. Effect of different media on production of lactic acid from whey by *Lactobacillus bulgaricus*, Afr. J Biotechnol. , 8 (1), 81-84, 2009.
62. G. B. Brinques; M. C. Peralba; M. A. Záchia, Optimization of probiotic and lactic acid production by *Lactobacillus plantarum* in submerged bioreactor systems, J Ind. Microbio!. Biotechnol. , 37, 205-212, 2010.
63. S. A. Ataei; E. Vashegani-Farahani, In situ separation of lactic acid from fermentation broth using ion exchange resins, J Ind. Microbio!. Biotechnol. , 35, 1229-1233, 2008.
64. K. W. Boddeker, Membrane filtration, Springer, Berlín, 2008; p 63-80.