

## El bagazo de la caña de azúcar como sustrato en la fermentación láctica

Miguel Omar Vera Dueñas<sup>1</sup>, Alex Javier Romero Moreira<sup>1</sup>, Génesis Alejandra Zambrano Zambrano<sup>1</sup>,  
Wilmer Ponce<sup>2</sup>, María Antonieta Riera<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>) Departamento de Procesos Químicos, Alimentos y Biotecnología. Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Carrera de Ingeniería Química. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador

<sup>2</sup>) Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Portoviejo, Portoviejo, Ecuador.

(\*) [maria.riera@utm.edu.ec](mailto:maria.riera@utm.edu.ec)

Recibido: 23/03/2024

Revisado: 12/04/2024

Aceptado: 30/04/2024

### Resumen

El bagazo de caña, subproducto lignocelulósico derivado de la industria azucarera, tiene potencial para la producción energética y el desarrollo de productos biotecnológicos de alto valor. Esta investigación se enfocó en la valorización del bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para la producción de ácido láctico. Se determinó su composición en cuanto a contenido de celulosa, compuestos extraíbles, lignina, holocelulosa y azúcares reductores totales. Mediante un pretratamiento de hidrólisis ácida usando un 2% de ácido clorhídrico por 30 minutos a 75 °C, se preparó el bagazo para los procesos fermentativos. Las fermentaciones se llevaron a cabo a 37 °C y 40 °C durante periodos de 48, 72 y 96 horas. El residuo reportó 51,26 ± 2,10% de celulosa, 13,60 ± 2,31% de extraíbles, 11,59 ± 0,49% de lignina, 76,44 ± 1,19% de holocelulosa y 0,84 ± 0,18g/L de azúcares totales. La cuantificación del ácido láctico generado se realizó utilizando cromatografía líquida de alta resolución, registrando una concentración máxima de 5,69 g/L bajo condiciones de 37 °C y 48 horas de fermentación.

**Palabras claves:** Ácido láctico; bioproductos; valorización del bagazo.

### Abstract

**Sugarcane bagasse as a substrate in lactic fermentation.** Cane bagasse, a lignocellulosic byproduct derived from the sugar industry, has the potential for energy production and the development of high-value biotechnological products. This research focused on the sugarcane bagasse valorization (*Saccharum officinarum*) for lactic acid production. Cellulose content, extractable compounds, lignin, holocellulose, and total reducing sugars were determined. The bagasse was prepared for the fermentation processes with acid hydrolysis pretreatment using 2% hydrochloric acid for 30 minutes at 75°C. Fermentations were carried out at 37 °C and 40 °C for 48, 72 and 96 hours. The residue reported 51.26 ± 2.10% cellulose, 13.60 ± 2.31% extractables, 11.59 ± 0.49% lignin, 76.44 ± 1.19% holocellulose and 0.84 ± 0.18g/L of total sugars. The quantification of the lactic acid generated was carried out using high-performance liquid chromatography, recording a maximum concentration of 5.69 g/L under conditions of 37 °C and 48 hours of fermentation.

**Keywords:** Lactic acid; bioproducts; bagasse valorization

### Introducción

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales como sustratos en procesos biotecnológicos para la producción de productos de alto valor agregado es una alternativa atractiva ya que estos materiales son abundantes, renovables y de bajo costo<sup>1</sup>. Se perfilan como una opción para reducir la dependencia del petróleo y al mismo tiempo, obtener nuevos compuestos que son económicos o técnicamente inviables de obtener por síntesis química<sup>2,3</sup>.

La agroindustria es una de las aportaciones más importantes en la economía del Ecuador ya que mediante la manufactura, es posible la conservación y transformación de materias primas. Las provincias con mayor superficie agropecuaria se encuentran en la región Costa del país, destacándose la producción de maíz, arroz y caña de azúcar<sup>4,5</sup>. Una de las principales problemáticas ambientales que genera esta actividad es la producción

de residuos donde solo una pequeña fracción es comestible para el hombre y animales, quedando la mayoría sin disposición final adecuada constituyendo un foco de contaminación<sup>6</sup>.

Los residuos agrícolas poseen en su estructura altos contenidos de polisacáridos, que pueden ser utilizados para la producción de azúcares fermentables. Un claro ejemplo es el bagazo de la caña de azúcar porque presenta características interesantes, tales como su renovabilidad, bajo valor económico y abundancia<sup>7</sup>. Este residuo está constituido principalmente de 50 % de celulosa, 25 % de hemicelulosas y 25 % de lignina<sup>8</sup>. A pesar de que es utilizado como combustible en las industrias azucareras, alimentaria, de papel, alcohol y química, grandes cantidades son acumuladas en la naturaleza<sup>1</sup>. Estudios relacionados con el tratamiento de los hidrolizados de bagazo de caña<sup>9</sup>, son de interés en la producción de productos biotecnológicos.

Investigaciones recientes se enfocan en encontrar nuevas me-

tecnologías usando este residuo como sustrato, para la obtención de bioetanol, biohidrógeno, bioplaguicidas fúngicos y ácido láctico<sup>10,11</sup>. Este último es precursor del ácido poliláctico, un polímero biodegradable que puede ser un sustituto del plástico convencional derivado del petróleo<sup>12,13</sup>.

El ácido láctico (AL), es un ácido orgánico natural de importancia industrial por sus amplias aplicaciones en la industria de alimentos, como acidulante, preservante y antimicrobiano. En la industria farmacéutica, como electrolito y fuente de minerales. En la industria cosmética como pH buffer y rejuvenecedor de la piel. En la industria química como neutralizante, solvente y agente limpiador<sup>14,15</sup>.

Cerca del 90% de la producción mundial de ácido láctico proviene de la fermentación láctica, debido a que se emplea materia prima de bajo costo. Algunos microorganismos pueden producir AL ópticamente puro, mientras que la síntesis química produce una mezcla racémica de AL y su proceso de producción tiene consecuencias negativas para el planeta<sup>16,17</sup>.

Sin embargo, convertir los azúcares de la pared celular del bagazo de caña en ácido láctico es un gran desafío debido a la naturaleza protectora bioquímica y estructural de la lignina, que dificulta la hidrólisis de los polisacáridos en monosacáridos fermentables. De manera general, los procesos de conversión empleados comprenden de cuatro a cinco etapas: reducción del tamaño de partícula, pretratamiento hidrolítico, sacarificación enzimática, fermentación y purificación. Cada etapa presenta diferentes metodologías que pueden generar varios resultados<sup>18</sup>. Por ejemplo, en ciertos procesos no es necesario llevar a cabo la sacarificación enzimática, sólo cuando la producción de azúcares fermentables obtenidos en la hidrólisis es baja<sup>19,20</sup>. La finalidad de reducir el tamaño de partículas es facilitar el acceso del ácido o del álcali a las zonas cristalinas de la estructura lignocelulósica para separar la lignina de la celulosa. Los azúcares fermentables liberados pueden convertirse posteriormente en AL mediante bacterias ácido-lácticas. Finalmente, el producto de interés se puede recuperar del licor de fermentación y determinar su concentración mediante la cromatografía de alta resolución (HPCL)<sup>21,22</sup>.

Esta transición hacia la utilización de sustratos renovables y de bajo costo, como el bagazo de caña de azúcar, no solo ofrece una ruta sostenible para la producción de compuestos valiosos como el ácido láctico, sino que también contribuye significativamente a la mitigación de los problemas de desechos y contaminación ambiental<sup>23</sup>. Dentro de este contexto, se propuso utilizar el residuo del bagazo de caña de azúcar, el cual es un residuo agrícola abundante y con alto contenido de azúcares, para la obtención de ácido láctico a través de un proceso fermentativo.

## Materiales y métodos

### Residuo utilizado

El bagazo de caña (BGC) empleado en esta investigación se obtuvo en el proceso de producción artesanal de jugo de caña

proveniente del cantón Junín, provincia de Manabí, de la costa ecuatoriana. El mismo se recolectó en sacos de yute con capacidad de 10 L y se trasladó al laboratorio, donde se redujo su tamaño en un molino de acción mecánica. Luego se tamizó en un tamiz ASTM No. 70. Las muestras tamizadas se conservaron en bolsas plásticas herméticas a temperatura ambiente hasta su utilización.

### Microrganismo y preparación del inóculo

Se utilizó la cepa liofilizada YOFLEX Lb-12 de *Lactobacillus delbrueckii*. Se tomó 0,5 g de cultivo y se activó en 50 mL caldo MRS (de Man, Rogosa y Sharpe), incubando a 37 °C durante 24 h. Luego, se tomó 1 mL de la muestra y se realizaron 10 diluciones seriadas por duplicado en Agar MRS, incubándose a 37 °C por 48 h<sup>21</sup>.

### Pretratamiento del residuo

Se efectuó un pretratamiento de hidrólisis ácida mediante lo señalado por Quintero Mora *et. al.*<sup>24</sup>. Se trabajó con una solución de HCl al 2% (v/v), temperatura y tiempo de 75 °C y 30 min, respectivamente. La proporción fue de 1:10 (p/v), por cada gramo de biomasa corresponden 10 mL de solución. El hidrolizado se filtró con papel Whatman, y al jarabe obtenido se le ajustó el pH entre 4 - 4,5 con NaOH 5N, para el proceso de fermentación.

### Determinación de azúcares reductores

La concentración de azúcares reductores (ART) en las muestras hidrolizadas se determinó con espectrofotómetro HACH, modelo Dr5000, a 540 nm mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) utilizando glucosa como estándar<sup>12</sup>. En el proceso de extracción de ART se evaluó el factor de tiempo de reacción de hidrólisis ácida a tres niveles (15, 30, 45 min). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado para un total de 9 experimentos.

### Caracterización del residuo

Se realizó la caracterización fisicoquímica del bagazo de caña de azúcar (BGC). Se determinó su humedad, celulosa, lignina, hemicelulosa, holocelulosa y extraíbles. Los procedimientos utilizados en cada caso se describen a continuación. La humedad se determinó según lo descrito en la norma ASTM-E871<sup>25</sup>, para lo cual se tomó 1 g de muestra se llevó a la estufa a una temperatura de 105 ± 2 °C durante 1 hora. Por diferencia de peso se determinó el porcentaje de humedad usando (1), donde %H es el porcentaje de humedad, m la masa de la muestra en g y m<sub>1</sub> la masa seca en g.

$$\%H = \frac{m - m_1}{m} \times 100 \% \quad (1)$$

El contenido de celulosa se encontró utilizando la metodología descrita por Domínguez *et al.*<sup>26</sup>. Para ello se tomó 1 g de la muestra, se añadió 15 mL de solución de ácido acético al 80% en masa/volumen (m/v); 1,5 mL de HNO<sub>3</sub> y se llevó a agitación constante durante 20 minutos. La muestra tratada se filtró y se lavó con etanol, se secó en estufa a una temperatura de 100-105 °C durante 90 minutos y se pesó (material A). Se procedió a la

incineración a 540°C (material B), se dejó secar en un desecador y se pesó. Los resultados obtenidos se emplearon para determinar el % de celulosa mediante (2):

$$\%Celulosa = \frac{\text{materialA} - \text{materialB}}{\text{Pesodelamuestra}} \times 100 \% \quad (2)$$

En la determinación de lignina se siguió el procedimiento señalado por Domínguez *et al.*<sup>26</sup>. Se tomó 1 g de la muestra, se añadió 70 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1,5% (v/v) y se llevó a agitación constante por 2 horas, se filtró y se lavó con agua destilada. A este material se le añadió 30 mL de una solución al 72% (v/v) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con agitación constante durante 4 horas. La muestra tratada se filtró y se lavó con agua destilada, se secó en estufa a una temperatura de 100-105 °C durante 120 minutos y se pesó (material C). Se incineró a 540 °C (material D), se dejó secar en un desecador y se procedió a pesar. El % de lignina se calculó usando (3).

$$\%Lignina = \frac{\text{materialC} - \text{materialD}}{\text{Pesodelamuestra}} \times 100 \% \quad (3)$$

La holocelulosa y hemicelulosa presente en el BGC, se encontró tomando 2 g de muestra libre de extractos, que se colocó en un matraz de 500 mL. Se añadió 160 mL de agua destilada, 1 g de clorito de sodio NaClO<sub>2</sub> y 0,2 mL de ácido acético. Se introdujo en un baño termostático a una temperatura entre 70 °C a 80 °C. Pasada 1 hora se añadió nuevamente 1 g de clorito de sodio NaClO<sub>2</sub> y 0,2 mL de ácido acético CH<sub>3</sub>COOH. Este proceso se repitió tres veces durante 3 horas, hasta que la muestra se tornó blanca. Se recogió el residuo y se introdujo en un crisol previamente pesado, y se secó a 105 ± 3°C durante 3 horas hasta peso constante<sup>27</sup>. El porcentaje de holocelulosa (%HC) se calculó mediante (4) y el porcentaje de hemicelulosa se calculó con (5).

$$\%HC = \frac{\text{Pesodelresiduo seco (g)}}{\text{Pesodelamuestra original libre de extracto}} \times 100 \% \quad (4)$$

$$\%Hemicelulosa = \%Holocelulosa - \%Celulosa \quad (5)$$

Para determinar los extraíbles se tomaron 12 g de muestra previamente tamizada, seca y con humedad determinada. Se colocó el dedal en el sistema de extracción (Soxhlet con condensador a reflujo) manteniendo una relación de ¾ de solvente con respecto al balón. Se realizó la extracción con n-Hexano durante 5 horas, se secó el contenido del dedal (libre de extraíbles) durante 48 horas a temperatura ambiente, luego se transfirió el material a un crisol previamente tarado y se pesó. Se secó en estufa a 100 ± 5 °C durante 2 horas, se sacó la muestra y se transfirió a un desecador durante 15 min<sup>28</sup>. Se pesó y secó hasta peso constante. El porcentaje de extraíbles se obtuvo por medio de (6), donde P.M es el peso libre de extraíble en gramos.

$$\%Extraíbles = \frac{12 \times P.M}{12} \times 100 \% \quad (6)$$

### Fermentación láctica

Se estableció un diseño de experimentos mixto (tabla 1), con dos factores: temperatura con dos niveles (37°C y 40°C) y tiempo de reacción con tres niveles (48 h, 72 h y 96 h). El experimento se llevó a cabo en Erlenmeyer de 100 mL, en los que

**Tabla 1.** Diseño del experimento

Factor	Nivel
Temperatura (°C)	37
	40
Tiempo (h)	48
	72
	96

se dispuso el inóculo e hidrolizado, se reguló el pH entre 4 - 4,5 y la concentración de azúcar presente en el medio, con la adición de sacarosa en polvo hasta una concentración de azúcar del 20% (m/v). Posteriormente, se selló herméticamente generando un ambiente anaerobio. Los recipientes se colocaron en una incubadora a 37 °C y 40 °C en iguales tiempos de reacción (48 h, 72 h y 96 h)<sup>29</sup>. Estos ensayos se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación del ácido láctico

La identificación y cuantificación del ácido láctico se realizó mediante una modificación del método propuesto por Zamanova *et al.*<sup>30</sup>, utilizando un cromatógrafo líquido ACCELA de ThermoFisher Scientific, equipado con una columna C18 de fase reversa (5µm; 4,6x100mm) y un fotodetector de matriz de diodos UV-VIS (PDA). Para la concentración del ácido láctico producido, se filtró la solución y luego se centrifugó a 2500 rpm por 5min, en tubos falcon para centrífuga. Una vez terminada la centrifugación, el sobrenadante obtenido se pasa por dos filtraciones, la primera por medio de un papel filtro Whatman con la ayuda de un embudo de porcelana y un Erlenmeyer de 500 mL conectado a una bomba de vacío. Posteriormente, se realizó una microfiltración al vacío, en membrana de un poro de 1,2 µm. La fase móvil binaria empleada, consistió en acetonitrilo (A) y una solución 3x10<sup>-2</sup> M de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, (B), a un radio de 12:88 (v/v) respectivamente, con un flujo constante de 0,7 mL/min. La detección fue realizada a una longitud de onda de 210 nm con un volumen de inyección de 20 µL, y temperatura controlada de 40 °C en la columna y compartimiento de muestras.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), usando el software *Statgraphics Centurion XVIII*. Se utilizó la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

## Resultados

### Caracterización del residuo

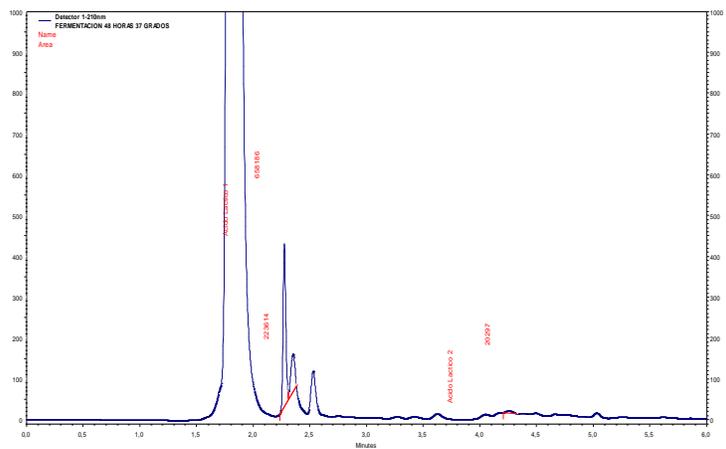
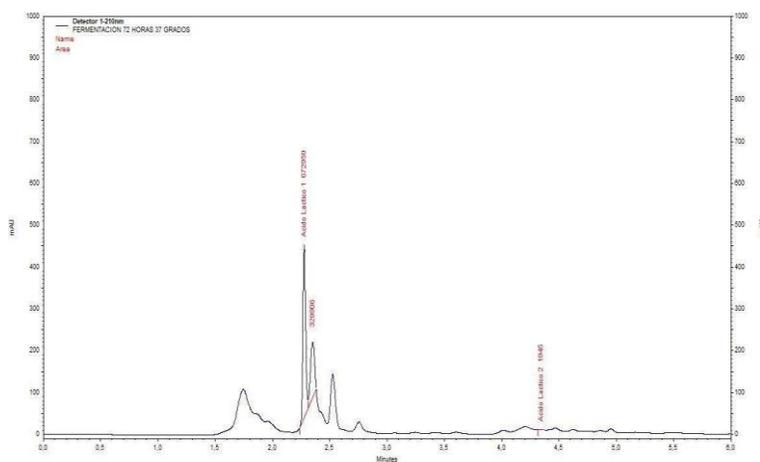
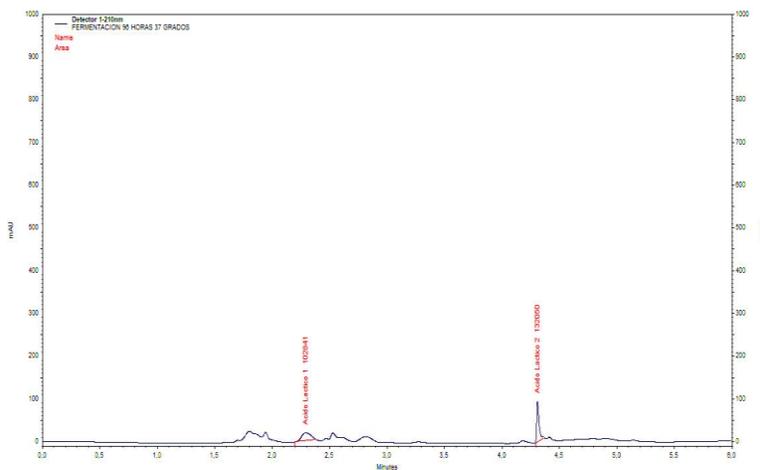
En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica del BGC.

### Fermentación láctica

Gracias a los procesos fermentativos, se obtuvo ácido láctico en cada una de las condiciones operacionales establecidas. Los resultados correspondientes se presentan en las figuras 1-6.

**Tabla 2.** Caracterización fisicoquímica del BGC \*

Parámetro	$\bar{x} \pm \sigma$
Humedad (%)	8,30 $\pm$ 0,92
Celulosa (%)	51,26 $\pm$ 2,10
Lignina (%)	11,59 $\pm$ 0,49
Holocelulosa (%)	76,44 $\pm$ 1,19
Hemicelulosa (%)	25,18 $\pm$ 2,78
Extraíbles (%)	13,60 $\pm$ 2,31

**Fig. 1:** Producción de AL registrada a 37 °C a 48 h.**Fig. 2:** Producción de AL registrada a 37 °C a 72 h.**Fig. 3:** Producción de AL registrada a 37 °C a 96 h.

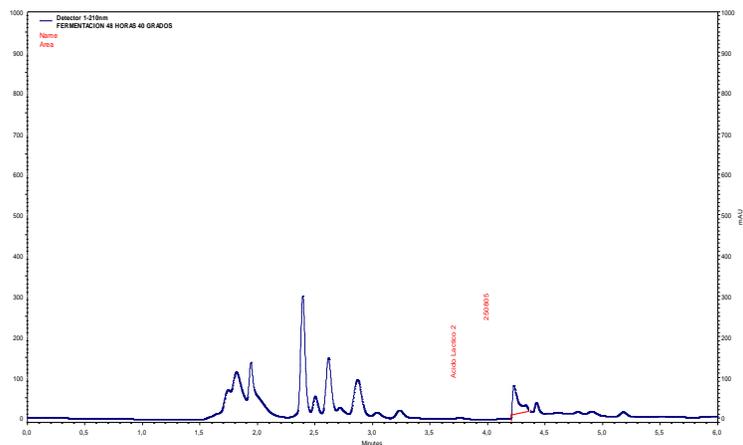


Fig. 4: Producción de AL registrada a 40 °C a 48 h.

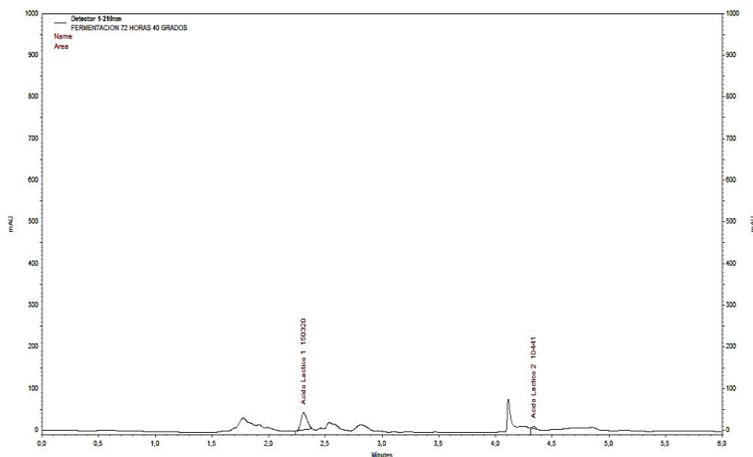


Fig. 5: Producción de AL registrada a 40 °C a 72 h.

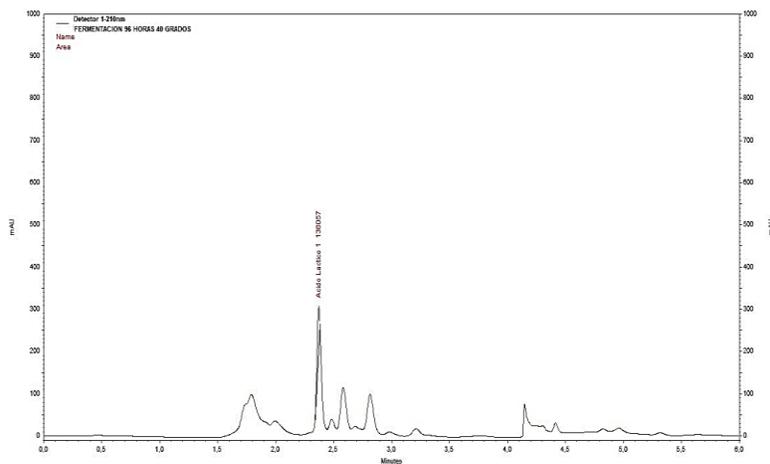


Fig. 6: Producción de AL registrada a 40 °C a 96 h.

Tabla 3. Concentración de AL para cada tratamiento.

Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración (g/L)
37	48	5,70
	72	5,65
	96	1,63
40	48	1,77
	72	0,95
	96	0,74

*Cuantificación del ácido láctico*

A partir del proceso de fermentación láctica (Tabla 3), se determinó que las condiciones de trabajo de 37 °C con un tiempo de fermentación de 48 h y 72 h favorecen la obtención de ácido láctico, por ser estas con las cuales se obtuvieron mejores resultados.

*Análisis estadístico*

En la tabla 4 se presentan los resultados del ANOVA obte-

**Tabla 4.** ANOVA para la producción de ácido láctico.

Factor	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<i>Efectos principales</i>				
A: Tiempo (min)	2,23529E+07	1,11765E+07	11.100.599.095	0.00000
B: Temperatura (°C)	4,52468E+07	4,52468E+07	44.939.752.221	0.00000
<i>Interacciones</i>				
AB	1,21721E+07	6,08604E+06	6.044.735.120	0.00000

nido para la producción de ácido láctico, considerando las variables que intervinieron en el proceso de fermentación.

## Discusión

Los resultados obtenidos en la caracterización del BGC, contrastan en investigaciones similares realizadas con el mismo residuo. Ferrer *et al.*<sup>31</sup>, obtuvieron una humedad de  $7,5 \pm 1,46$  %; azúcares reductores de  $6,09$  g/L. Chandler *et al.*<sup>32</sup>, reportaron un contenido de humedad de  $5,19 \pm 0,32$  %,  $17,28 \pm 0,04$  % de extraíbles y  $1,51 \pm 0,09$  g/L para los azúcares reductores.

El contenido de humedad obtenido en este trabajo es superior a lo reportado en otros trabajos<sup>33</sup>, lo que puede atribuirse a diferencias en el método de secado o en las condiciones ambientales durante el almacenamiento de los residuos. Estas diferencias en el contenido de humedad podrían influir en la eficiencia de la hidrólisis, ya que un mayor contenido de agua puede diluir los reactivos y disminuir la concentración de catalizador, afectando así la tasa de reacción. La variabilidad en los niveles de azúcares reductores y extraíbles puede ser resultado de la heterogeneidad intrínseca del BGC, así como de las diferencias en los procedimientos de extracción utilizados en cada estudio. Una mayor presencia de extraíbles puede competir con los azúcares reductores durante la reacción de hidrólisis ácida, posiblemente inhibiendo la formación de AL. Es importante destacar que la presencia de estos compuestos en las concentraciones detectadas es un indicativo favorable para el proceso de hidrólisis en la producción de AL, ya que asegura una cantidad suficiente de sustrato reaccionante<sup>34</sup>.

En una investigación similar Ferrer *et al.*<sup>31</sup>, reportaron  $12,86 \pm 0,28$  % para el contenido de lignina;  $71,52 \pm 1,92$  %;  $52,25 \pm 0,34$  % y  $19,27 \pm 1,58$  % para los contenidos de holocelulosa, celulosa y hemicelulosa respectivamente. Para Chandler *et al.*<sup>32</sup>, los resultados para lignina, holocelulosa, celulosa y hemicelulosa fueron de  $12,49 \pm 0,08$  %;  $70,24 \pm 1,90$  %;  $65,25 \pm 0,89$  % y  $7,99 \pm 1,01$  %, respectivamente. Domínguez *et al.*<sup>26</sup>, registraron  $53,73$  % para el contenido de celulosa y  $26,37$  % de lignina. Cabrera-Ayala y Novoa<sup>35</sup>, obtuvieron  $1,3 \pm 0,05$  % de lignina soluble,  $23,8 \pm 0,76$  % de lignina insoluble,  $70,50 \pm 2,06$  % de holocelulosa,  $49,3 \pm 1,33$  % de celulosa y  $21,2 \pm 0,73$  % de hemicelulosa. Por su parte Alokika *et al.*<sup>36</sup>, indican que el BGC contiene entre 32-45% de celulosa y 20-32% de hemicelulosa, proporcionando

una base comparativa robusta para las mediciones de celulosa y hemicelulosa registradas en esta investigación.

Con base a lo reportado en la literatura consultada, se evidencia que los resultados obtenidos en esta investigación se encuentran dentro de los valores reportados para la composición lignocelulósica del bagazo de caña de azúcar. La similitud entre los valores reportados, sugiere que las condiciones de pretratamiento y las características inherentes del bagazo de caña de azúcar mantienen una relativa uniformidad entre distintas muestras y métodos de estudio. La lignina, por otro lado, puede afectar la eficiencia del proceso al actuar como un inhibidor físico y químico, limitando el acceso de los reactivos a la celulosa y hemicelulosa, reduciendo la eficiencia de la sacarificación, o formando productos secundarios que requieren purificación adicional<sup>36</sup>. Por ende, un contenido elevado de lignina podría requerir etapas adicionales de pretratamiento para mejorar los rendimientos de AL<sup>35</sup>. La similitud en la composición lignocelulósica reflejada en los resultados obtenidos en nuestra investigación indica que las técnicas de procesamiento aplicadas son adecuadas para la obtención de AL y están en concordancia con las metodologías establecidas, lo que contribuye a la replicabilidad y escalabilidad del proceso para su aplicación industrial.

En la producción de ácido láctico, la muestra a  $37$  °C y 48 h presentó mayor contenido de ácido láctico al observar una mayor altura y área de los 3 picos identificados. Esto indica que se obtuvo una concentración máxima de producto luego de 48 horas de reacción. Por el contrario, a  $37$  °C (72 y 96) h de reacción, la concentración disminuye como resultado de la transición de las fases estacionaria y de muerte de los microorganismos.

Al finalizar la fermentación a  $40$  °C durante los tiempos establecidos, se evidencia mayor presencia de ácido láctico en el pico de la muestra a 48 h de reacción, alcanzando la mayor concentración en el menor tiempo de estudio. Sin embargo, la cantidad de AL obtenido fue inferior respecto a  $37$  °C por la incidencia de la temperatura. Esto sugiere el uso de bacterias preferiblemente termófilas, que fermenten rápida y completamente este tipo de sustratos.

Saavedra *et al.*<sup>37</sup> resaltaron la eficacia de *Lactobacillus plantarum* en la conversión de melaza de caña a ácido láctico, sugiriendo que las condiciones óptimas para la fermentación pueden ser altamente específicas para el sustrato y la cepa

utilizada. Al comparar estos hallazgos con los del presente estudio, se evidencia que la cepa empleada en la muestra fermentada, pudo haber tenido una adaptabilidad particularmente alta a las condiciones de fermentación o una afinidad específica por los nutrientes presentes, lo que resultó en una mayor producción de ácido láctico. Esto se corrobora con la altura y área de los picos identificados en el cromatograma, donde la muestra sometida a 37 °C y 48 h muestra una clara ventaja en la concentración máxima alcanzada.

Djukić-Vuković *et al.*<sup>38</sup> enfatizan la importancia de la selección de cepas capaces de fermentar eficientemente sustratos complejos en condiciones variables. La disminución en la concentración de ácido láctico observada en las muestras a podría atribuirse a la influencia de la temperatura durante la fermentación, lo que contrasta con la necesidad de emplear bacterias termófilas para mejorar la sostenibilidad y eficiencia de la producción. El menor rendimiento de AL comparado con el estudio anterior resalta la relevancia de la temperatura en la actividad y viabilidad de las bacterias, y subraya la posibilidad de optimizar aún más el proceso mediante la manipulación de este parámetro y la selección de cepas con perfiles termófilos adecuados para estas condiciones. Estos ajustes podrían conducir a una producción de ácido láctico más consistente y predecible, alineada con las metas de sostenibilidad y rentabilidad<sup>38</sup>.

En investigaciones similares se evaluó el uso de residuales agrícolas para la obtención de ácido láctico. Jawad *et al.*<sup>39</sup>, alcanzaron una concentración de 17,484 g/L de AL al trabajar con residuos de cáscara de mango y 5,9 g/L al emplear piña como sustrato. En una investigación se empleó una mezcla de residuos de mora y suero de leche, obteniendo una concentración de  $461,068 \pm 0,118 \mu\text{g}$  ácido láctico/L<sup>40</sup>. Así mismo, Rodríguez Rojas *et al.*<sup>41</sup>, obtuvieron una concentración de ácido láctico de 2,54 g/L al utilizar bagazo de caña de azúcar, siendo un valor inferior al reportado en este trabajo.

La comparativa de los resultados de ácido láctico obtenidos en este estudio con aquellos reportados en otros trabajos<sup>39,40</sup>, indica una variación significativa en las concentraciones alcanzadas, lo cual puede ser atribuible a varios factores clave en el proceso de fermentación. Saavedra *et al.*<sup>37</sup>, señalaron la importancia de la optimización del medio de fermentación, en particular cuando se utiliza melaza de caña como sustrato, lo cual indica que la composición del medio puede tener un efecto sustancial en la eficiencia de la producción de ácido láctico. En esta investigación, la selección del BGC como sustrato podría haber influenciado la disponibilidad de nutrientes y, por consiguiente, la producción de ácido láctico, comparativamente menor a la obtenida al utilizar residuos de cáscara de mango y piña, lo que posiblemente se deba a diferencias en la composición de azúcares y otros compuestos fermentables presentes en los distintos residuos<sup>39</sup>.

En investigaciones recientes se ha demostrado que la eliminación de lignina y extractivos del bagazo de caña mejora significativamente la sacarificación y la fermentación, alcanzando una conversión de celulosa del 87% y una producción de etanol de 15,17 g/L<sup>42</sup>. Vaz *et al.*<sup>43</sup>, exploraron diferentes pretratamientos químicos en el bagazo de caña, encontrando que los tratamientos con ácidos sulfúrico y oxálico, además de los alcalinos con peróxido de hidrógeno, son particularmente efectivos para solubilizar la hemicelulosa y eliminar lignina, respectivamente. En un trabajo similar, se introdujo un paso innovador de pre-fermentación de carbohidratos solubles en agua antes del pretratamiento ácido, mejorando notablemente la producción de ácido D-láctico con el bagazo de caña como sustrato. Con ello se logró reducir la generación de inhibidores y aumentar la producción de ácido D-láctico a 57,0 g/L, un avance significativo que refleja el potencial de optimización del proceso de fermentación<sup>13</sup>.

La elección de cepas bacterianas, así como las condiciones de fermentación (temperatura y tiempo de reacción), también son aspectos determinantes en la eficiencia de conversión de los sustratos complejos en ácido láctico<sup>38</sup>. El uso de bacterias termófilas, podría mitigar las diferencias de rendimiento observadas frente a los resultados donde emplearon bagazo de caña de azúcar y obtuvieron concentraciones superiores<sup>41</sup>. Esto coincide con lo señalado respecto a la optimización de los métodos de producción y la adaptación de los microorganismos a los sustratos y condiciones de fermentación específicos<sup>38</sup>.

La glucosa añadida en algunos de los estudios comparativos podría ser un factor determinante en la eficiencia de la fermentación. La disponibilidad directa de este monosacárido como fuente de carbono fácilmente asimilable para las bacterias podría explicar las altas concentraciones de ácido láctico<sup>38</sup>, lo que resalta la influencia de la suplementación del sustrato en la obtención de resultados óptimos.

Otro aspecto observado, es la notable disminución en la concentración de ácido láctico con el aumento del tiempo de fermentación para ambas temperaturas, 37 °C y 40 °C, siendo mayor en la temperatura más alta. A 37 °C, hay una disminución significativa después de las 48 horas iniciales, podría interpretarse como el agotamiento de los nutrientes disponibles o la acumulación de inhibidores metabólicos. Al respecto Abdel *et al.*<sup>44</sup>, señalan que los inhibidores derivados de lignocelulosa pueden afectar la producción de ácido láctico. Los resultados sugieren que, después de un período óptimo de fermentación, los productos de la reacción o los cambios en el ambiente pueden inhibir el metabolismo bacteriano o la viabilidad celular.

En cuanto a la temperatura es importante establecer condiciones óptimas para la producción de ácidos lácticos ópticamente puros, que son precursores del polímero biodegradable poliácido láctico<sup>45</sup>. Las temperaturas más altas pueden

afectar la estabilidad de las enzimas y la integridad de las células bacterianas, resultando en una menor producción de ácido láctico, como se observa en el decremento significativo de la concentración a 40 °C en comparación con 37 °C en todos los tiempos evaluados. Esto puede deberse a la sensibilidad de las bacterias productoras de ácido láctico a las temperaturas elevadas, lo que puede afectar su crecimiento y fermentación.

La disminución continua de la concentración de ácido láctico a 40 °C señala que las bacterias podrían estar experimentando estrés térmico, lo que impacta negativamente en su capacidad para producir ácido láctico. Esto podría estar relacionado con la desnaturalización de enzimas involucradas en la ruta metabólica de producción de ácido láctico o con una alteración en la permeabilidad de la membrana celular que afecta la homeostasis interna y, por ende, en el metabolismo bacteriano<sup>45</sup>.

La caracterización del BGC indica que este residuo posee un alto contenido de celulosa y holocelulosa, componentes preferentes para la fermentación. Sin embargo, el contenido de lignina podría requerir etapas de pretratamiento adicionales para mejorar la disponibilidad de los azúcares fermentables. Estos hallazgos subrayan la importancia de una selección cuidadosa de las condiciones de pretratamiento y fermentación para optimizar la producción de ácido láctico, así como la necesidad de cepas bacterianas con capacidades metabólicas específicas para sustratos complejos.

El análisis de varianza (ANOVA) aplicado a los datos evidenció diferencias estadísticamente significativas en la producción de ácido láctico influenciadas por las variables de temperatura y tiempo. La producción óptima de ácido láctico se observó a 37 °C con tiempos de fermentación de 48 h y 72 h, demostrando que estas condiciones favorecen la actividad fermentativa de *Lactobacillus delbrueckii*. La disminución notable de la concentración de ácido láctico a 96 h y a una temperatura de 40°C sugiere un posible efecto inhibitorio debido al estrés térmico o al agotamiento de nutrientes, lo cual es coherente con la literatura existente que resalta la sensibilidad de las cepas bacterianas a las condiciones ambientales.

Los altos valores de F y en contraste unos valores de P prácticamente nulos (0.00000) confirman que ambas variables, tanto de forma individual como conjunta, afectan de manera decisiva la producción. Esto sugiere que cualquier cambio en la temperatura y el tiempo de fermentación altera significativamente la cantidad de ácido láctico producido. Esta información es de importancia en la optimización del proceso de fermentación, enfatizando la necesidad de controlar rigurosamente dichas variables para maximizar los rendimientos.

## Conclusiones

El bagazo de caña de azúcar se destaca como una materia prima abundante, con potencial para ser utilizada como sustrato en la generación de productos de valor agregado. La

hidrólisis química, empleando ácidos en bajas concentraciones, representa una vía viable para la obtención de azúcares destinados a procesos fermentativos. Los resultados de la fermentación láctica indican que el incremento de la temperatura a 40°C conlleva a una notable reducción en la producción de ácido láctico. Este fenómeno subraya cómo la interacción de diversas variables, incluyendo el tipo de sustrato, el agente hidrolizante, su concentración, el tiempo y la temperatura de reacción, el pH y la cepa utilizada, juega un rol crucial en la producción de ácido láctico. La interpretación del análisis estadístico confirma la sinergia existente entre las condiciones físicoquímicas del bagazo de caña de azúcar y las variables operativas de la fermentación. De allí, la necesidad de pretratar el bagazo para disminuir su contenido de lignina y aumentar la disponibilidad de los azúcares fermentable. Dentro de este contexto, para optimizar los rendimientos futuros, es esencial determinar la proporción ideal de glucosa o de otros nutrientes en el medio de fermentación, a fin de maximizar la producción de ácido láctico a partir del bagazo de caña de azúcar.

## Referencias

1. E Martínez, M Villareal, E Almeida, J Silva, A Solenzal, L Canilha, S Mussanto. Uso de diversas materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *biotecnológica de xilitol. Ciencia y tecnología de los alimentos*, **3(5)**, 295-301 (2002).
2. G Mustafa, M Arshad, I Bano, M Abbas, M. Biotechnological applications of sugarcane bagasse and sugar beet molasses. *Biomass Conversion and Biorefinery*, **13**, 1489-1501 (2020).
3. B Jin, P Yin, Y Ma, L Zhao. Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus* fungi from food processing waste streams. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **32**, 678-686 (2005).
4. Perfil sectorial en la Agroindustria. Instituto de promoción de exportaciones e inversiones, Ecuador (pp. 2-27). PROECUADOR (2017).
5. P Baral, A Pundir, V Kumar, A Kurmi, D Agrawal, D. Expedient production of concentrated glucose-rich hydrolysate from sugarcane bagasse and its fermentation to lactic acid with high productivity. *Food and Bioproducts Processing*, **124**, 72-81 (2020).
6. K Cury, Y Aguas, A Martínez, R Olivero, LC Ch. Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, **9(S1)**, 122-132 (2017).
7. R Suárez, RB Morín. Caña de azúcar y sostenibilidad: enfoques y experiencias cubanas. *Desarrollo Alternativo A.C. Desal*, **19**, 41-26 (2005).
8. K Nalawade, P Baral, SP Patil, A Pundir, A Kurmi, K Konde, S Patil, D Agrawal. Evaluation of alternative strategies for generating fermentable sugars from high-solids alkali pretreated sugarcane bagasse and successive valorization to L (+) lactic acid. *Renewable Energy*, **157**, 708-717 (2020).

9. R Rodríguez, M Felipe, J Almeida, M Vitolo, P Gómez. The influence of pH, temperatura and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, **18**, 299-311 (2001).
10. JO Madu, BO Agboola. Bioethanol production from rice husk using different pretreatments and fermentation conditions. **3 Biotech**, **8(1)**, 15 (2018).
11. A González-Leos, MG Bustos-Vázquez, G Rodríguez-Castillejos, LV Rodríguez-Durán, A Del Ángel-DeL Ángel. Kinetics of lactic acid fermentation from sugarcane bagasse by *Lactobacillus pentosus*. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, **19(1)**, 377-386 (2019).
12. HAE Duran, DC Parada, D Laverde, DY Peña, C Vásquez. Obtención de ácido poli l-láctico mediante policondensación con catalizador de cinc metálico. **Scientia et Technica**, **1(36)**, 267-272 (2007).
13. Z Qiu, X Han, A Fu, Y Jiang, W Zhang, C Jin, D Li, J Xia, J He, Y Deng, N Xu, H Gu, J Xu. Enhanced cellulosic D-lactic acid production from sugarcane bagasse by pre-fermentation of water-soluble carbohydrates before acid pretreatment. **Bioresource Technology**, **368**, 128324 (2022).
14. P Westerhoff, Y Yoon, S Snyder, E Wert. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. **Environmental science and technology**, **39(17)**, 6649-6663 (2005).
15. D Wischral, JM Arias, LFA Modesto, DF Passos, N Pereira. Lactic acid production from sugarcane bagasse hydrolysates by *Lactobacillus pentosus*: Integrating xylose and glucose fermentation. **Biotechnology Progress**, **35 (1)**, e2718 (2018).
16. E Cubas-Cano, C González-Fernández, M Ballesteros, E Tomás-Pejó. Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate. **Biofuels, bioproducts and biorefining**, **12(2)**, 290-303 (2018).
17. Q An, J Bu, J Cheng, BB Hu, YT Wang, MJ Zhu. Biological saccharification by *Clostridium thermocellum* and two-stage hydrogen and methane production from hydrogen peroxide-acetic acid pretreated sugarcane bagasse. **International Journal of Hydrogen Energy**, **45**, 30211-30221 (2020).
18. Q Ji, X Yu, AE Yagoub, L Chen, OA Fakayode, C Zhou. Synergism of sweeping frequency ultrasound and deep eutectic solvents pretreatment for fractionation of sugarcane bagasse and enhancing enzymatic hydrolysis. **Ultrasonics Sonochemistry**, **73**, 105470 (2021).
19. J Wu, A Elliston, G Le Gall, IJ Colquhoun, SR Collins, IP Wood *et al.* Optimising conditions for bioethanol production from rice husk and rice straw: effects of pre-treatment on liquor composition and fermentation inhibitors. **Biotechnology for biofuels**, **11(1)**, 1-13 (2018).
20. M Domínguez, AA Castillo, T Castrejón, M Granados, F Hernández, VH Alcalá, J Picazo. Estudio de la Cinética de la Hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar sin pretratamiento para la obtención de azúcares reductores. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, **12(3)**, 153-159 (2011).
21. RE Tejada-Tovar, LP Tejada-Benítez, CN Tejada-Tovar, A Villabona-Ortiz, C Granados-Conde. Aprovechamiento de ñame espino post-cosecha (*Dioscorea rotundata P.*) en la extracción de ácido láctico. **Prospectiva**, **16(1)**, 76-82 (2018).
22. J Grewal, SK Khare. One-pot bioprocess for lactic acid production from lignocellulosic agro-wastes by using ionic liquid stable *Lactobacillus brevis*. **Bioresource Technology**, **251**, 268-273 (2018).
23. A Simair, AS Qureshi, SP Simair, I Khushk, S Klykov, CH Ali, C Lu. An integrated bioprocess for xylanase production from agriculture waste under open non-sterilized conditions: Biofabrication as fermentation tool. **Journal of Cleaner Production**, **193**, 194-205 (2018).
24. LP Quintero Mora, Y Martínez Castilla, JA Velasco Mendoza, A Arévalo Rodríguez, Y Amparo Muñoz, NA Urbina Suarez. Evaluación de residuos de papa, yuca y naranja para la producción de etanol en cultivo discontinuo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. **Rev.ION**, **28(1)**, 43-53 (2015).
25. American Society for Testing and Materials (ASTM). Norma E871-82. Método de prueba estándar para análisis de humedad de combustibles de madera en partículas. West Conshohocken: ASTM International (2019).
26. MM Domínguez, A Álvarez Castillo, M Granados Baeza, F Hernández Campos. Estudio de la cinética del pretratamiento e hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, **13(4)**, 202-203 (2012).
27. CP Loja Sánchez. Optimización de los residuos de cascarilla de arroz mediante pretratamiento por hidrólisis ácida para la obtención de azúcares reductores. Tesis de grado mención en Ingeniería Química. Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador (2017).
28. MR Fonseca Maldonado. Determinación de la composición química de la madera de pino candelillo (*Pinus maximinoi H. E. Moore*) procedente de la finca Río Frío, Tactic, Alta Verapaz. Tesis de grado mención en Ingeniería Química. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala (2006).
29. CG Calvopiña Toapanta, JC Manotoa Betancourt. Obtención de ácido láctico a partir de lactosuero y almidón de papa mediante fermentación láctica. Tesis de grado mención en Ingeniería Química. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador (2020).
30. MVN Zamanova, TI Glotova, D Krutas, V Novikov. Determinación simultánea por HPLC-UV de ácido láctico, ácido glicólico, glicólido, lactida y acetato de etilo en monómeros para producir polímeros biodegradables. **Procedia Chemistry**, **10**, 244-251 (2014).
31. JR Ferrer, G Páez, L Arenas de Moreno, C Chandler, Z Mármol, L Sandoval. Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. **Revista de la Facultad de Agronomía**, **19(1)**, 23-33 (2002).
32. C Chandler, N Villalobos, E González, E Arenas, Z Mármol, J Ríos, CA Mazzarri. Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables. **Rev. Multiciencias**, **12(3)**, 245 – 253 (2012).

33. C Vieira, MC Codogno, F Maugeri Filho, R Maciel Filho, A Mariano. Sugarcane bagasse hydrolysates as feedstock to produce the isopropanol-butanol-ethanol fuel mixture: Effect of lactic acid derived from microbial contamination on *Clostridium beijerinckii* DSM 6423. **Bioresource Technology**, **319**, 124140 (2020).
34. MJ Mantilla Torres. Hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar y paja de trigo con una posterior fermentación alcohólica para obtención de etanol. Tesis de grado mención en Ingeniero Químico. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador (2012).
35. C Cabrera Ayala, C Novoa Izaguirre. Influencia de la concentración y temperatura de fermentación de azúcares reductores obtenidos a partir de hidrolizado de bagazo de caña de azúcar, en la obtención de un biopolímero empleando *Bacillus subtilis*. **Agroindustrial Science**, **6**, 17-28 (2016).
36. Alokika, Anu, A Kumar, V Kumar, B Singh. Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: Potential, challenges and future perspective. **International Journal of Biological Macromolecule**, **169**, 564-582s (2020).
37. S Saavedra, L Alejandro-Paredes, JC Flores-Santos, C Flores-Fernández, H Arellano-García, AI Zavaleta-Pesantes. Optimización de la producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* cepa Hui1 en un medio que contiene melaza de caña, **Agronomía Colombiana**, **39(1)**, 98-107 (2021).
38. A Djukić-Vuković, D Mladenović, J Ivanovic, J Pejin, L Mojović. Towards sustainability of lactic acid and poly-lactic acid polymers production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, **108**, 238-252 (2019).
39. AH Jawad, AF Alkarkhi, OC Jason, AM Easa, N Nik Norulaini. Production of the lactic acid from mango peel waste - Factorial experiment. **Journal of King Saud University - Science**, **25(1)**, 39-45 (2013).
40. AC Soto Montes. Evaluación de la producción de ácido láctico empleando residuo de mora y suero de leche en sistema de lote. Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia (2015).
41. MC Rodríguez Rojas, R Morales Rodríguez, D Rodríguez Gómez. Producción de ácido láctico a partir de bagazo de caña de azúcar residual de la industria azucarera. **Verano de la Investigación Científica**, **2(1)**, 1594-1597 (2016).
42. A Schmatz, J Candido, J., D de Franceschi de Angelis, M Brienzo. Semi-Simultaneous Saccharification and Fermentation Improved by Lignin and Extractives Removal from Sugarcane Bagasse. **Fermentation**, **9(5)**, 405 (2023).
43. FL Vaz, J da Rocha Lins, BR Alves Alencar, ÍB Silva de Abreu, E Espinosa Vidal, E Ribeiro, EV de Sá Barretto Sampaio, RSC Menezes, ED Dutra. Chemical pretreatment of sugarcane bagasse with liquid fraction recycling. **Renewable Energy**, **174**, 666-673 (2021).
44. M Abdel-Rahman, S Hassan, A Fouda, A Radwan, MG Barghoth, SG Desouky. Evaluating the Effect of Ligno-cellulose-Derived Microbial Inhibitors on the Growth and Lactic Acid Production by *Bacillus coagulans* Azu-10. **Fermentation**, **7(1)**, 17 (2021).
45. S Huang, Y Xue, B Yu, L Wang, C Zhou, Y Ma. A Review of the Recent Developments in the Bioproduction of Polylactic Acid and Its Precursors Optically Pure Lactic Acids. **Molecules**, **26(21)**, 6446 (2021).