

**OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOPROTEINA DE
CALIDAD ALIMENTARIA MEDIANTE PROCESO FERMENTATIVO PARTIR
DE LACTOSUERO**

OSCAR ENRIQUE GAVIRIA QUINA

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PROCESOS DE ALIMENTOS Y BIOMATERIALES
PALMIRA
OCTUBRE 2020**

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOPROTEINA DE CALIDAD ALIMENTARIA MEDIANTE PROCESO FERMENTATIVO PARTIR DE LACTOSUERO

OSCAR ENRIQUE GAVIRIA QUINA

TRABAJO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA ALCANZAR EL TITULO DE ESPECIALIZACION EN PROCESOS DE ALIMENTOS Y BIOMATERIALES

POLÍTICA PÚBLICA EN EL APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO DE RESIDUOS AGROALIMENTARIOS

CÓDIGO: 202097161

ANDREA VASQUEZ

DIRECTOR(A): INGENIERA AGROINDUSTRIAL, MAGISTER Y DOCTORA EN INGENIERIA EN ALIMENTOS

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PROCESOS DE ALIMENTOS Y BIOMATERIALES
PALMIRA
OCTUBRE 2020**

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Ciudad y Fecha (día, mes, año) (Fecha de entrega)

DEDICATORIA

A Dios

Por su infinita bondad me abrió siempre los caminos, me ilumino en los momentos difíciles y siempre me dio la fe que necesitaba para salir adelante y lograr alcanzar mis metas.

A mi Familia

Quienes a lo largo de mi vida me han apoyado y han estado conmigo siempre tanto en los momentos de dificultades como en los momentos felices y me han apoyado especialmente en esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por todo el apoyo que recibí durante este tiempo que tuve la posibilidad de formarme como Especialista en Procesos de Alimentos y Biomateriales y siempre son mi apoyo en los momentos que más los he necesitado y siempre con su ayuda he podido crecer personal y profesionalmente.

A la directora de este trabajo Andrea Vásquez a quien le agradezco por toda la ayuda y colaboración que me brindo en este proceso y a todos los docentes de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD los cuales con su paciencia, compromiso y dedicación hicieron que este proceso fuera exitoso y de calidad para mi vida.

Resumen

El lactosuero es un residuo de la industria agroalimentaria que produce grandes niveles de contaminación y que tiene grandes potenciales por sus propiedades para obtener productos de gran valor en la industria de alimentos y bebidas. El objetivo de este trabajo es determinar cuáles son las herramientas de optimización más adecuadas y aplicar la más pertinente en un proceso para el aprovechamiento de lactosuero en la producción de proteínas de valor alimentario. Indican que las variables más influyentes del proceso son: la temperatura serán 32°C – 38°C, la humedad inicial del sustrato esta entre (85 - 95 %) suero de quesería enriquecido. La Fase de aceleración de las levaduras empiezan a multiplicarse, encontrándose una población de 10^5 células/ml y la preparación del inóculo en un proceso de fermentación se deben tener conteos aproximados de 10^6 a 10^8 UFC/mL Para poder obtener la concentración deseada para el desarrollo de las fermentaciones, La sepa de microorganismo utilizado es *Kluyveromyces marxianus* var. *Marxianus*, ATCC 28244, el tiempo de proceso es de 34 horas de las cuales 24 serían con agitación. Después de la fermentación se tomaron 5 g del sustrato húmedo fermentado y se utilizó para cuantificar el contenido de concentrado de proteína de valor alimentario, cómo variable de respuesta. Evaluación de la producción de proteína alimentaria a partir de lactosuero en el proceso de fermentación. Para la optimización se propuso el uso diseño Box–Behnken. Los resultados de la optimización mínima muestran que a una temperatura de 32°C y una humedad de 89,4444 para obtener un mínimo de concentración de proteína de 2,33193 g agua/g de proteína lo que indica que en estas condiciones estaría por encima de la concentración mínima que se encontró en la literatura reportada. De acuerdo a estos resultados se pudo concluir que ajustando temperatura y la humedad se pueden obtener mejores resultados y que el lactosuero es un residuo viable para obtener proteína con muchas aplicaciones en la industria de alimentos.

Palabras clave: Simulación, herramientas digitales, residuo agroalimentario, concentración.

Abstract

Whey is a waste from the agri-food industry that produces high levels of contamination and has great potential due to its properties to obtain high-value products in the food and beverage industry. The objective of this work is to determine which are the most suitable optimization tools and apply the most pertinent in a process for the use of whey in the production of proteins of food value. They indicate that the most influential variables of the process are: the temperature will be 32 ° C - 38 ° C, the initial humidity of the substrate is between (85-95%) enriched cheese serum. The acceleration phase of the yeasts begin to multiply, finding a population of 10^5 cells / ml and the preparation of the inoculum in a fermentation process should have approximate counts of 10^6 to 10^8 CFU / mL in order to obtain the desired concentration for development of the fermentations, the microorganism strain used is *Kluyveromyces marxianus* var. *Marxianus*, ATCC 28244, the process time is 34 hours of which 24 would be with shaking. After fermentation, 5 g of the fermented wet substrate were taken and used to quantify the content of protein concentrate of food value, as a response variable. Evaluation of the production of food protein from whey in the fermentation process. For optimization the use of Box – Behnken design was proposed. The results of the minimum optimization show that at a temperature of 32 ° C and a humidity of 89.4444 to obtain a minimum protein concentration of 2.33193 g water / g of protein, which indicates that under these conditions it would be above of the minimum concentration found in the reported literature. According to these results, it could be concluded that by adjusting temperature and humidity better results can be obtained and that whey is a viable residue to obtain protein with many applications in the food industry.

Keywords: Simulation, digital tools, agri-food waste, concentration

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	10
CAPITULO 1	12
OBJETIVOS.....	12
1.1 OBJETIVO GENERAL	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
CAPITULO 2	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
2.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	13
CAPITULO 3	14
JUSTIFICACIÓN.....	14
CAPITULO 4	16
PROCESOS PARA LA OBTENCIÓN DE PROTEÍNA DE VALOR ALIMENTARIO A PARTIR DE LACTOSUERO	16
4.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	16
4.1.1 Recepción del lacto suero	16
4.1.2 Centrifugación.....	16
4.1.3 Pasteurización	16
4.1.4 Ultrafiltración.....	16
4.1.5 Hidrolisis de sustratos hasta azúcares fermentables.	17
4.1.6 Proceso de fermentación	17
4.1.7 Separación de la biomasa y obtención de los componentes proteicos	17
4.2 DIAGRAMA DE FLUJO DE TODAS LAS OPERACIONES INVOLUCRADAS EN EL PROCESO DE TRANSFORMACIÓN DEL LACTOSUERO PARA OBTENER PROTEÍNA DE VALOR ALIMENTARIO.....	18
4.3 FLUJO GRAMA DEL PROCESO, UTILIZANDO EL SIMULADOR DE PROCESOS INDUSTRIALES - SIMULADOR COCO.....	19
CAPITULO 5	20
NORMATIVA PARA LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS.....	20
CAPITULO 6	21
EVALUACION DE LAS VARIABLES QUE AFECTAN EL PROCESO Y DESCRIPCION DE LA METODOLOGIA PARA OPTIMIZAR EL PROCESO.....	21
6.1 Preparación del medio de cultivo para la fermentación.....	21
6.2 Cinética de la fermentación.....	21
6.3 Evaluación de las variables que afectan el proceso.....	22
6.4 Elección de la herramienta para la optimización del proceso	22
6.5 Descripción de la metodología para optimizar el proceso de fermentación	23
6.6 Paso a paso del proceso de optimización	25

Conclusiones y recomendaciones	34
Conclusiones.....	34
Recomendaciones.....	35
ANEXOS	36
A. Anexo: Producción De Lactosuero En Colombia.....	36
B. Anexo: Simulación de bioprocesos	37
Bibliografía	38

Lista de Figuras

Fig. 1 Diagrama de flujo de transformación del suero por medio de fermentación en proteína de valor alimentario.	18
Fig. 2 Flujo de proceso transformación del suero por medio de fermentación en proteína de valor alimentario.....	19
Fig. 3 Se configura el programa con DOE, superficie de respuesta.Ecuación 1	25
Fig. 4 Selección del modelo Box- Behnken.	25
Fig. 5 Caracterización de los factores.....	26
Fig. 6 Configuraciones tabla de resumen y tabla de diseño en resultados.	26
Fig. 7 Resumen de Diseño	27
Fig. 8 Diseño de Box – Behnken.....	28
Fig. 9 Datos de la concentración de la proteína.	28
Fig. 10 Regresión de superficie de respuesta.	29
Fig. 11 Graficas Regresión de superficie de respuesta.....	30
Fig. 12 Grafica de superficie de concentración de proteína. Temperatura vs inculo.....	31
Fig. 13 Grafica de superficie de concentración de proteína. Temperatura vs Humedad. .	31
Fig. 14 Grafica de superficie de concentración de proteína. Humedad vs inculo.....	32
Fig. 15 Optimizador de respuesta concentración de proteína.....	32
Fig. 16 Graficas optimizador de respuesta concentración de proteína para el mínimo.....	33
Fig. 17 Optimización para el máximo.....	33

Lista de Tablas

Tabla 1 valores Concentración de proteína g agua/g proteína.	24
--	----

INTRODUCCION

En Colombia en 22 departamentos hace presencia la industria láctea y se ha considerado uno de los polos de desarrollo a nivel rural para la economía nacional. Ver anexo A Actualmente representa el 2,3% de PIB nacional y el 24,3% del PIB agropecuario, además de generar más de 700.000 empleos directos (Pinto, 2017) Las proteínas de lactosuero son usadas ampliamente en una variedad de alimentos gracias a sus propiedades gelificantes y emulsificantes, siendo la β -lactoglobulina el principal agente gelificante. Los geles de proteína de lactosuero pueden ser usados como hidrogeles de pH-sensitivos, el cual puede ser definido como red tridimensional que muestra la habilidad de hincharse en agua y retiene una fracción significativa de agua dentro de esta estructura. (Parra Huertas, 2009)

En la actualidad modelos de bioprocesos han tenido un gran desarrollo y diversidad de aplicaciones en la industria de agroalimentaria. El grado de aproximación depende de factores como el conocimiento del comportamiento de la reacción, los datos requeridos para la construcción y validación del modelo, requerimientos computacionales y el uso que se le dará al modelo. Debido a estos y otros factores, la incertidumbre en el modelo está presente, dado que el conocimiento exacto de los parámetros del mismo no llega a ser preciso, teniendo además la posibilidad de incertidumbre en la medida, producida por ruido en la medición Los bioprocesos se caracterizan por un comportamiento dinámico complejo de naturaleza no lineal, con incertidumbre del modelo, variaciones de parámetros imprevisibles; Además, la mayoría de las variables representativas son típicamente no accesibles para la medición on-line. En muchos procesos es importante lograr una buena estimación de la concentración de microorganismos en el birreactor, puesto que su medición es muy costosa y probablemente no pueda ser realizada en línea, normalmente esta variable se estima a partir de la medición de la concentración de los sustratos. (Ortega et al., 2015)

En la industria agroalimentaria requiere ser cada día más competitiva mediante la optimización de los procesos, esto implica mejorar la utilización y asignación de los

recursos que intervienen en la producción. Para muchas empresas la competitividad se define de distintas formas, pero en este caso se caracteriza como la capacidad de una empresa para producir sus productos, usando los recursos eficientemente, de tal forma que permita ser más competitivos; ya que al optimizar la capacidad de producción se puede hacer más, empleando los mismos recursos. En las organizaciones es fundamental la toma de decisiones, ya que a partir de estas se generan distintos impactos en los procesos productivos. Por ende, las empresas pequeñas y medianas se basan en técnicas de toma de decisiones fundamentadas en el conocimiento adquirido por la experiencia, sin la posibilidad de verificar la efectividad sus decisiones. Una herramienta usada actualmente por muchas compañías es la simulación computacional, la cual se utiliza con el fin de modificar los recursos, procesos, políticas, entre otros, sin necesidad de intervenir y modificar el sistema de producción.

En este momento hay disponible un gran número de Herramientas que se pueden utilizar para optimizar los procesos en la industria tanto en la parte administraba como de procesos las cuales se pueden integrar y logran grades mejoras en la competitividad de las mismas.

CAPITULO 1

OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar cuáles son las herramientas de optimización más adecuadas y aplicar la más pertinente en un proceso para el aprovechamiento de lactosuero en la producción de proteínas de valor alimentario.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el lactosuero de queso producido en Colombia para la obtención de bioproteína de alto valor alimentario y establecer condiciones de proceso.

Determinar que herramienta de optimización es más viable para el proceso de aprovechamiento de lactosuero en la producción de proteínas de valor alimentario.

CAPITULO 2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La producción total mundial de lactosuero se estima en 190 millones de toneladas Cada año, proveniente de la producción de queso (94%) y caseína (6%) con un crecimiento anual del 2 por ciento. Actualmente, el 50 por ciento se industrializa, especialmente en países desarrollados. Por otra parte, la tasa de producción de suero de leche está aumentando con tasas similares de la producción de leche. La tasa de crecimiento global es de alrededor de 2% por año, Una proporción se utiliza para la alimentación animal y en aplicaciones alimentarias. Sin embargo, el suero de leche causando importantes problemas ambientales y de salud, debido a la producción de gran volumen y alto contenido orgánico. Los valores de la demanda (DBO) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO) de suero de leche son aproximadamente 27- 60 g / L y 50 a 102 g / l, respectivamente. La disposición de suero de leche en alcantarillas municipales ha sido prohibida por muchas autoridades locales ya que interrumpe el proceso biológico de las plantas depuradoras. El Suero de leche que se descarga en la tierra crea problemas de contaminación graves para el entorno que lo rodea al afectar las características fisicoquímicas del suelo que resulta en la disminución de rendimiento de los cultivos. Además, cuando se descargan en aguas como lixiviados reduce el oxígeno disuelto, supone un grave riesgo para la vida acuática y para el medio ambiente, el suero de leche contiene componentes complejos que son difíciles de degradar y crean un problema importante a cualquier planta de tratamiento de aguas residuales que trata otros afluentes. Por lo tanto, el manejo adecuado es (tratamiento o reutilización). (Yadav et al., 2015).

Algunas alternativas existentes para la utilización del suero de queso requieren una tecnología especial y costosa como es la elaboración de suero en polvo también se pueden obtener concentrados de proteínas con amplias aplicaciones en la industria de alimentos.

De acuerdo con estas problemáticas toma vital importancia el aprovechamiento del lactosuero en productos y subproductos que le permitan un crecimiento y mayor desarrollo a la industria láctea.

Pregunta de investigación.

¿Cuál es el método de optimización de proceso más adecuado para la obtención de proteína alimentaria a partir de lactosuero?.

CAPITULO 3

JUSTIFICACIÓN

Por ser altamente contaminante el lactosuero, se ha categorizado como un desperdicio, aunque, en la actualidad se realizan estudios utilizando tecnologías como el fraccionamiento, la deshidratación, la fermentación, con el fin de transformarlo en producto útil de alto valor agregado. La tecnología que ha ganado importancia es la fermentación, ya que permite obtener una amplia gama de productos. Los estudios más relevantes sobre la transformación del lactosuero por acción fermentativa, permiten comprobar que las transformaciones biotecnológicas son las más recomendadas para alcanzar el mayor potencial de esta materia prima. (Ramírez Navas 2012).

El lactosuero es uno de los subproductos de la industria quesera más contaminantes de cada 100 litros de suero que van a las cañerías, 35 kilos de demanda bioquímica de oxígeno DBO y 65 kilos de demanda química de oxígeno según los expertos equivale la contaminación de aguas negras producida en un día por 750 personas. Por su gran valor nutritivo es viable utilizarlo en la alimentación, es un desacierto no utilizarlo ya que tiene un contenido alto de proteínas grasa y lactosa y por lo menos la mitad de los nutrientes de la leche.

La demanda de quesos es cada vez mayor, lo que conduce a una mayor obtención de lactosuero lo que genera un problema de manejo. Para superar este problema, se han empleado diversas técnicas para transformar el lactosuero en productos de valor agregado. Estos avances tecnológicos han mejorado la utilización de lactosuero y aproximadamente el 50% de este total producido es procesado para obtener productos de valor agregado tales como polvo de suero de leche, proteína de suero, permeado de suero, bioetanol, biopolímeros, hidrógeno, metano, bioproteína, electricidad, (proteína unicelular) y probióticos. Entre los diversos productos de valor agregado, la transformación de suero de leche en productos proteínicos es atractivo y exigente. La principal razón de interés para la transformación de suero de leche en productos proteínicos es la generalmente reconocida como segura (GRAS) reguladora de suero de leche. El Suero y permeado del suero son biotransformadas en alimento proteico y bioproteína de calidad alimentaria, proteína unicelular a través de la fermentación. Por otra parte, el suero se puede procesar directamente para obtener concentrado de proteína de suero, aislado de proteína de suero de leche, y proteínas de suero individuales. Además, las proteínas de suero de leche también se transforman en péptidos

bioactivos mediante procesos enzimáticos o de fermentación. Los productos proteicos tienen aplicaciones como productos funcionales, nutricionales y terapéuticos. Características del lactosuero, y sus procesos de transformación de los productos proteicos tales como bioproteínas, proteína funcional, nutricional y péptidos bioactivos. (Yadav et al. 2015).

En Colombia se vienen desarrollando investigaciones con el fin de aumentar el aprovechamiento del láctosuero por su gran contenido de nutrientes lo convierte en un producto de interés en la industria de alimentos ya que se puede utilizar para elaborar una gran variedad de productos como bollería (galletas, dulces, panes, pasteles), dulces (caramelos, chocolates), productos lácteos (margarinas, quesos, yogures), bebidas (zumos de frutas, bebidas energéticas), helados, jarabes, productos cárnicos, salsas, y aderezos de ensaladas. (Gonzales 2013).

CAPITULO 4

PROCESOS PARA LA OBTENCIÓN DE PROTEÍNA DE VALOR ALIMENTARIO A PARTIR DE LACTOSUERO

4.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

4.1.1 Recepción del lacto suero

Una vez que llega el lactosuero es sometido a una serie de análisis químicos y microbiológicos para asegurar la calidad inicial como se muestra en la figura 1. Se tomara una muestra de suero con el fin de determinar la composición nutricional (Materia seca, Proteína, Cenizas, lactosa y PH).

4.1.2 Centrifugación

Este proceso se realiza para eliminar los posibles restos de caseína coagulada y grasa procedente de la producción del queso. El objetivo de esta operación es evitar posibles colmataciones en la ultrafiltración del suero.

4.1.3 Pasteurización

Se realiza un tratamiento térmico suave de $T = 72\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $t = 15\text{ s}$ y un enfriado rápido a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ para inactivar las enzimas y bacterias que se puedan encontrar.

4.1.4 Ultrafiltración

Esta operación consiste en el paso de un caudal de alimentación de suero acondicionado, el cual entra de forma tangencial en un módulo tubular de ultrafiltración y es filtrado por unas membranas de $1000 - 200\ 000\ \text{D2 a}$ (Unidad de masa utilizada para expresar la masa atómica y molecular), donde obtenemos dos salidas de fluido: El filtrado, conocido como permeado el cual sale de forma perpendicular respecto al módulo tubular, concentrado o retenido que contiene las proteínas deseadas. La presión del proceso es de 10 bar y la temperatura de

entrada del suero acondicionado debe ser en torno a 50 °C, para maximizar el área de trabajo de la membrana y alargar la vida útil.

4.1.5 Hidrolisis de sustratos hasta azúcares fermentables.

Es necesario realizar hidrolisis de proteínas, logrando obtener una fuente de nitrógeno para favorecer el crecimiento microbiano y eliminar y reducir los costos y suplementos. (Ramírez Navas, 2012).

4.1.6 Proceso de fermentación

El proceso de fermentación se debe realizar de acuerdo al procedimiento realizado por (De Mendoza et al., 2006).

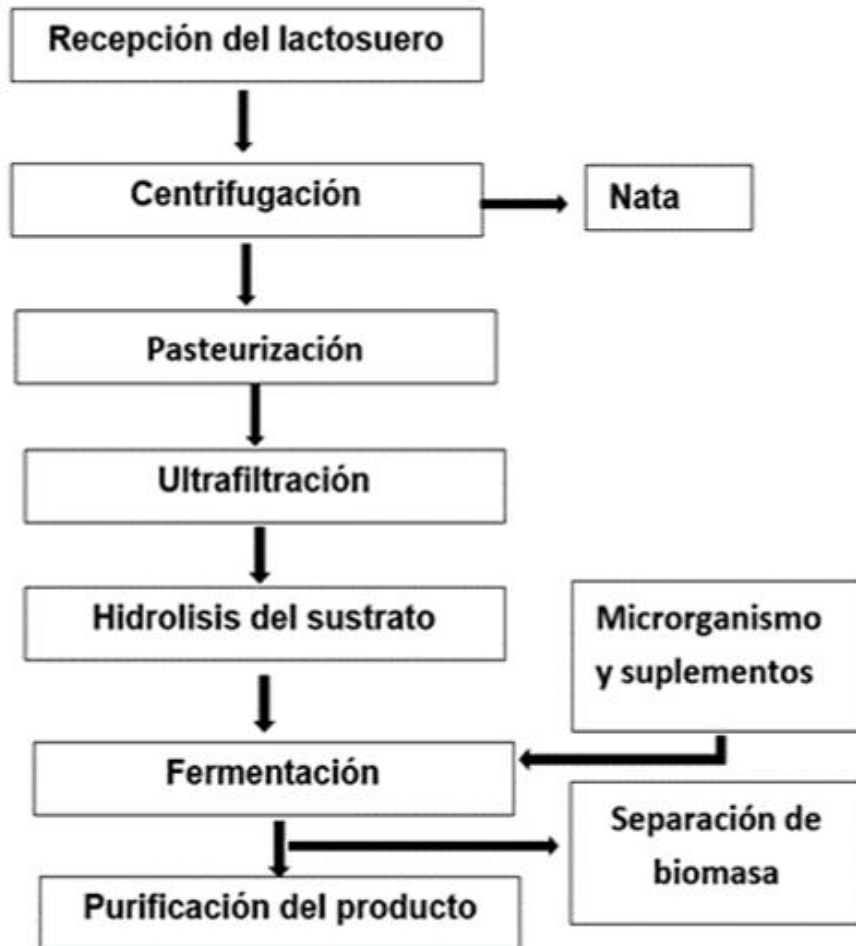
La Fermentación se realiza con la levadura *Kluyveromyces marxianus* la cual es capaz de asimilar la lactosa el producto. El producto obtenido tiene un contenido proteico que oscila entre 40 y 80% en base seca y su calidad la asemeja más a la proteína animal que a la vegetal.

4.1.7 Separación de la biomasa y obtención de los componentes proteicos

En este proceso se realiza la recuperación de la biomasa como se muestra en la figura 2 por un proceso de separación y se procede con purificación de la solución proteica para obtener el concentrado proteico final de acuerdo a la metodología que se propone en el trabajo realizado por (De Mendoza et al., 2006).

4.2 DIAGRAMA DE FLUJO DE TODAS LAS OPERACIONES INVOLUCRADAS EN EL PROCESO DE TRANSFORMACIÓN DEL LACTOSUERO PARA OBTENER PROTEÍNA DE VALOR ALIMENTARIO.

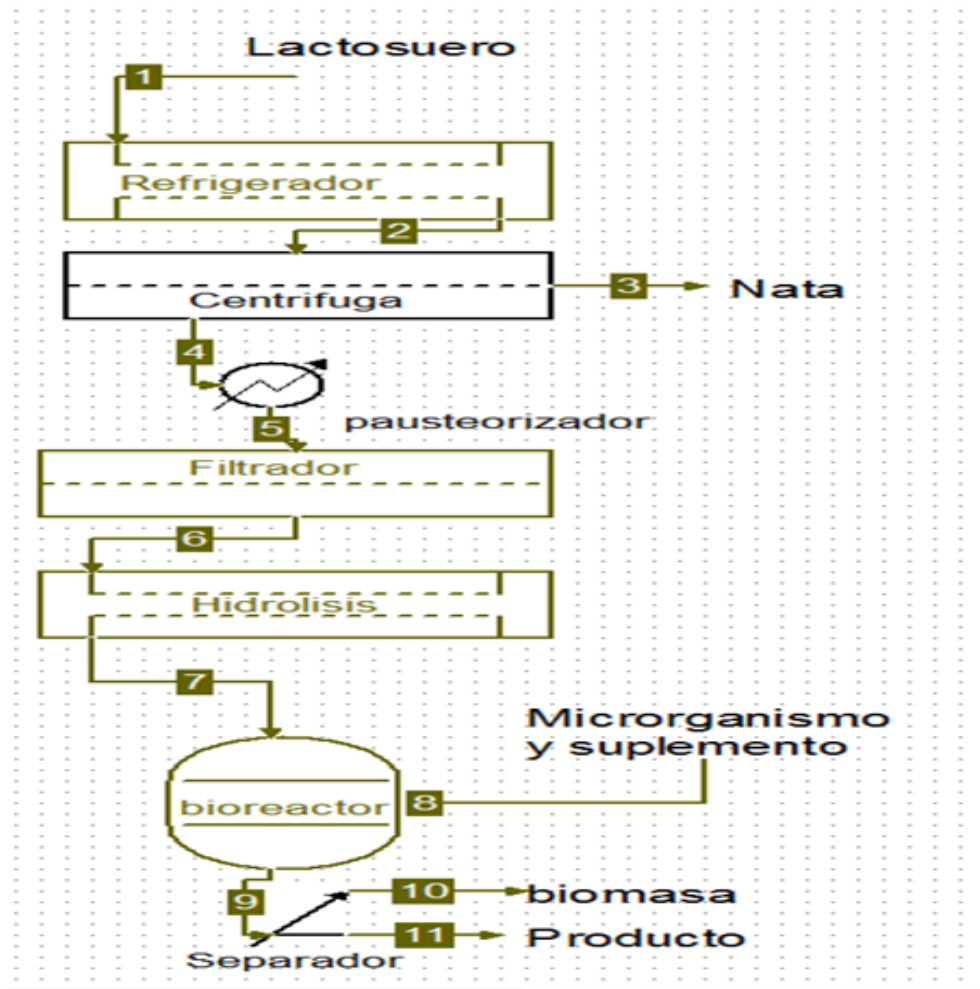
Fig. 1 Diagrama de flujo de transformación del suero por medio de fermentación en proteína de valor alimentario.



Fuente: (Ramírez Navas, 2012)

4.3 FLUJO GRAMA DEL PROCESO, UTILIZANDO EL SIMULADOR DE PROCESOS INDUSTRIALES - SIMULADOR COCO.

Fig. 2 Flujo de proceso transformación del suero por medio de fermentación en proteína de valor alimentario.



Fuente: Elaboración propia.

CAPITULO 5

NORMATIVA PARA LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS.

La normatividad colombiana en los diferentes aspectos que influyen en la biotecnología, como propiedad intelectual, bioseguridad y recursos genéticos, debe estar acorde con los modelos internacionales, para propiciar la inversión extranjera y los vínculos internacionales. Particularmente, la propiedad intelectual es un factor de éxito para el desarrollo de este sector, de allí que exista la permanente inquietud de los empresarios y expertos nacionales y extranjeros en cuanto a su protección, buscando salvaguardar sus conocimientos e investigaciones. La claridad en la regulación normativa del sector industrial facilitará el fomento a empresas de base biotecnológica en cuanto a innovación, selección de tecnologías adecuadas y calidad de productos y procesos. (Castellanos et al., 2011).

A continuación atreves de la siguiente infografía se especifican los principales decretos o normas que rigen los procesos biotecnológicos en Colombia.



CAPITULO 6

EVALUACION DE LAS VARIABLES QUE AFECTAN EL PROCESO Y DESCRIPCION DE LA METODOLOGIA PARA OPTIMIZAR EL PROCESO.

6.1 Preparación del medio de cultivo para la fermentación.

La sepa de microorganismo utilizado según otros estudios previos es *Kluyveromyces marxianus var. Marxianus*, ATCC 28244, el medio de cultivo sería el lactosuero pre tratado, fraccionado e hidrolizado se ajusta con pH de 4,5 con ácido acético concentrado y se le aplica un tratamiento térmico de 96°C /15 minutos se realiza un proceso de reposo de 18 horas a temperatura ambiente, se ajusta la concentración de lactosa al 1.5% p/v y se suplementa con sulfato de amonio y extracto de levadura a las concentraciones de 0,1 y 0,2, el pH se reajusta a 4,5 y luego se debe esterilizar a 121°C/15min. La preparación del inóculo se hace a través de dos ciclos de crecimiento de levadura a 35 °C en el medio de cultivo descrito, en el primer ciclo se incuban 20 horas utilizando un agitador recíprocamente luego se realiza una segunda fase con adición de más medio de cultivo para obtener el inóculo requerido. En la Fermentación Los cultivos se preparan en un fermentador de 60 litros con volumen de trabajo de 30 litros con una agitación recíprocamente de 140 Oscilaciones por minuto a unas temperaturas entre 32 - 38°C la cantidad de inóculo debe ser equivalente al 10% del volumen de trabajo y con la adición de antiespumante a una concentración de 0,33 mL/L. Durante el proceso se burbujeaba aire estéril en forma continua a razón de 1,22 volúmenes de aire por volumen de medio por minuto (VVM). (De Mendoza et al., 2006).

6.2 Cinética de la fermentación

Durante la fermentación, el sustrato se consume, los microorganismos crecen y se multiplican y se forma el producto. La biocinética de las fermentaciones estudia los procesos de consumo de sustrato, de formación de biomasa y de biosíntesis de productos. Las fermentaciones se pueden clasificar en dependencia de los perfiles de formación de biomasa y de producto. Para los tipos II y III de fermentaciones se distinguen la tropofase y la idiofase. La tropofase es el periodo inicial de la fermentación, durante la cual la biomasa crece con gran velocidad y el producto no se forma o se forma en bajas concentraciones. La idiofase es el periodo de la

fermentación en el cual la velocidad de formación del producto es alta. (Vargas, 2017).

6.3 Evaluación de las variables que afectan el proceso

De acuerdo a la literatura Estudios previos indican que las variables más influyentes del proceso son: de temperatura serán 32°C – 38°C, la humedad inicial del sustrato esta entre (85 - 95%) suero de quesería enriquecido. La Fase de aceleración de las levaduras empiezan a multiplicarse, encontrándose una población de 10^5 células/ml y la preparación del inóculo en un proceso de fermentación se deben tener conteos aproximados de 10^6 a 10^8 UFC/mL Para poder obtener la concentración deseada para el desarrollo de la fermentaciones, el tiempo de proceso es de 34 horas de las cuales 24 serían con agitación. Después de la fermentación se tomaron 5 g del sustrato húmedo fermentado y se utilizó para cuantificar el contenido de concentrado de proteína de valor alimentario, cómo variable respuesta. (Vargas, 2017).

6.4 Elección de la herramienta para la optimización del proceso

La transformación digital es una herramienta que tiene amplias aplicaciones tanto en la parte administrativa como en la parte productiva y que influye tanto en la transformación en la manera que hacemos negocios y prestamos servicio como también la modernización y estandarización de los procesos productivos. Es por eso que la industria de alimentos y demás agroindustrias deben adoptar tecnologías innovadoras que las ayude a optimizar las operaciones diarias y aumentar los márgenes. Ya no importa solamente ofrecer el mejor precio, sino que para tener éxito hay que estar alineados con los clientes. La mejor alternativa sería el uso de aplicaciones web ya que en la actualidad existen para muchos campos de aplicación tanto de carácter administrativo como en la parte productiva según sea la necesidad algunos ejemplos serían Software de contabilidad y facturación, Herramienta sinnaps, Plataformas de financiación en el punto de venta, Herramientas digitales de recursos humanos, Plataformas de almacenamiento en la nube, Herramientas digitales para la comunicación, herramientas estadísticas y en la parte de procesos los simuladores de procesos los cuales nos permitirán estimar las condiciones óptimas de proceso para optimizar cada uno de ellos haciéndolos más eficientes y eficaces por supuesto que este proceso y la elección de las herramientas debe ir dirigido en cada una de sus áreas por talento humano calificado. En la parte

productiva existen muchas aplicaciones para la simulación de los procesos y los bioprocesos, algunos de ellas son, Software Minitab, Software SuperPro Designer, Software Coco. Para el presente trabajos se utilizara Software Minitab en la herramienta superficie de respuesta.

6.5 Descripción de la metodología para optimizar el proceso de fermentación

Para la optimización se propuso el uso diseño Box–Behnken. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial cuadrático de acuerdo con la ecuación 1:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \sum \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Ecuación 1. Modelo polinomial cuadrático para optimización del proceso

Donde y es la variable estimada, β_0 , β_i , β_{ii} , y β_{ij} son los coeficientes de regresión para el intercepto, lineal, cuadrático y la interacción, respectivamente y x_i , x_j son las variables independientes.

El diseño del experimento y la optimización del proceso se realizó por software Minitab usando el diseño box behnken.

En estudios previos, empleando *Saccharomyces cerevisiae* se encontró esta misma tendencia al obtener (a pH 5, ambos) 3,71 g agua/g proteína para el concentrado sin fosforilar y 5,11 g agua/g proteína para el concentrado fosforilado. Sung y col. obtuvieron 7,1 g agua/g proteína para el aislado de soya sin fosforilación y 11,7 g agua/g proteína para el aislado de soya fosforilado. En otro estudio se señalan valores de 1,85 hasta 6,3 mL agua/g proteína para aislados proteicos de soya de varias marcas comerciales. Para el aislado proteico a partir de *Saccharomyces cerevisiae* se reportan 4,24 g agua/g proteína. (De Mendoza et al., 2006).

Con base a la literatura se tomaran los siguientes valores de Concentración de proteína g agua/g proteína los cuales se pueden ver en el Tabla 1.

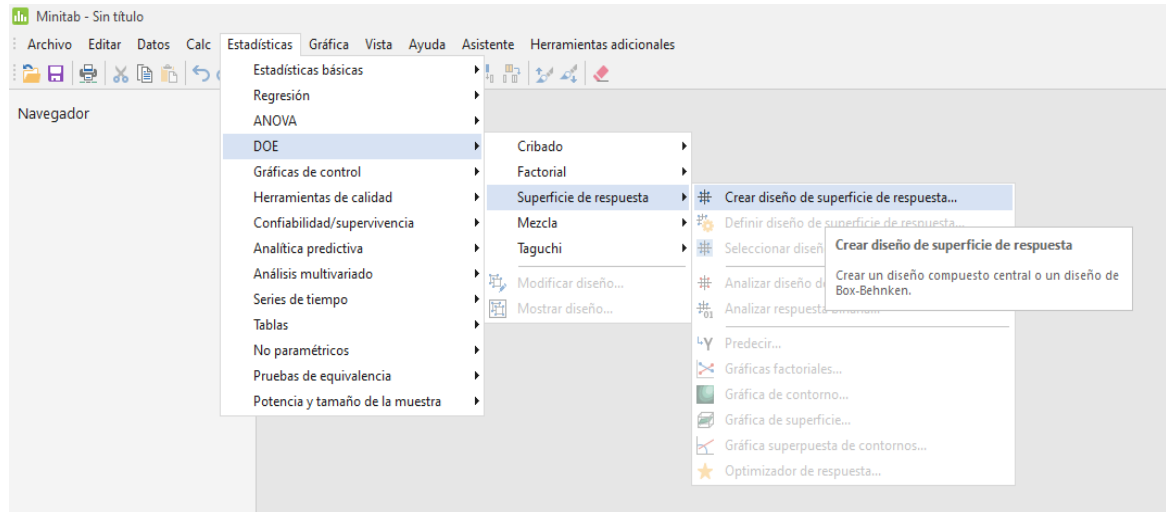
Tabla 1 valores Concentración de proteína g agua/g proteína.

concentracion de proteina g agua/g proteína	
1	1,85
2	2,8
3	3,71
4	4,2
5	4,8
6	4,8
7	5,11
8	5,6
9	5,9
10	6,1
11	6,3
12	6,4
13	6,7
14	6,9
15	7,1

Fuente:(De Mendoza et al., 2006)

6.6 Pasó a paso del proceso de optimización

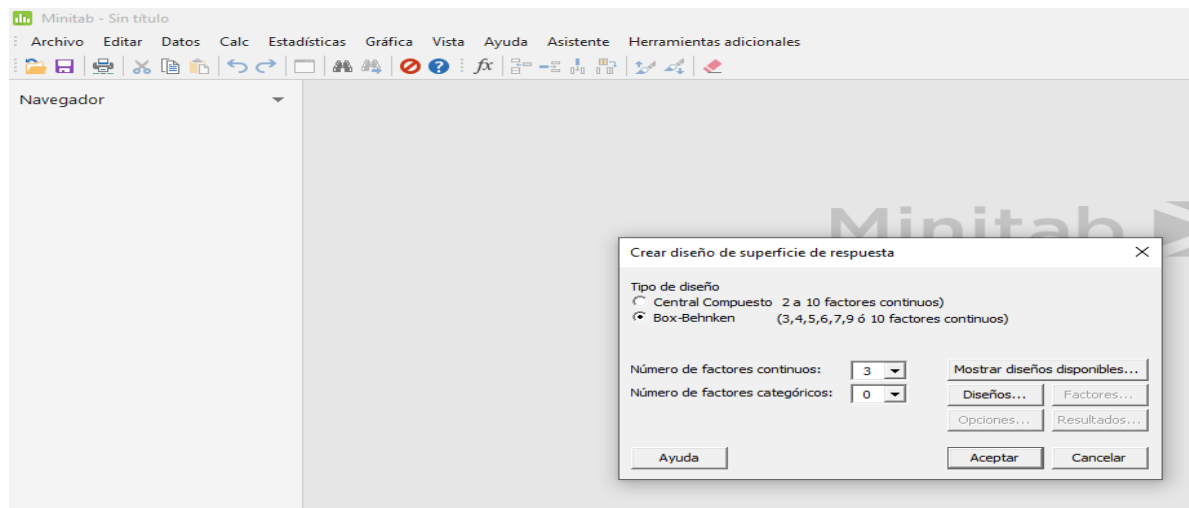
Fig. 3 Se configura el programa con DOE, superficie de respuesta.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 3 se muestra la configuración del programa con DOE, superficie de respuesta y crear diseño de superficie de respuesta.

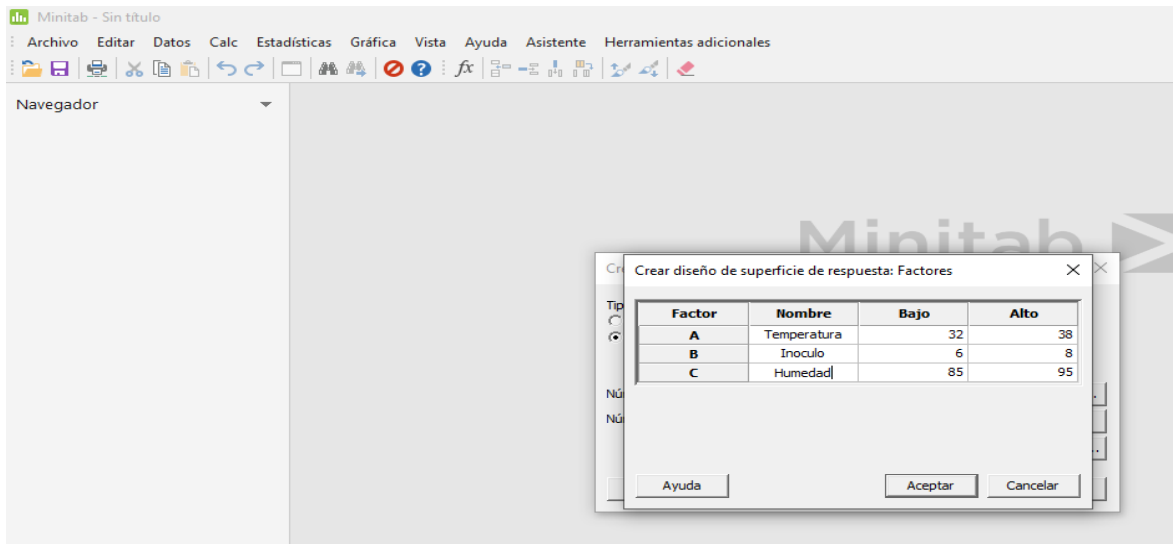
Fig. 4 Selección del modelo Box- Behnken.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 4 se muestra el procedimiento para elegir la Box – Behnken y 3 factores continuos.

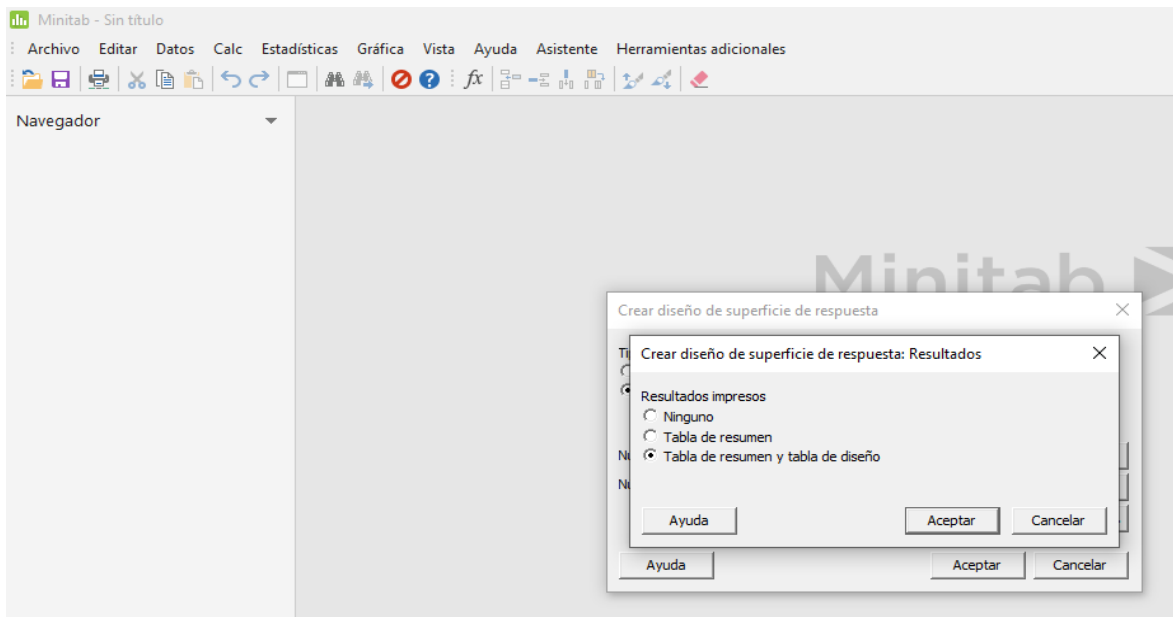
Fig. 5 Caracterización de los factores.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 5 se puede escoger el nombre de los factores y sus valores de acuerdo a lo especificado en los datos del problema.

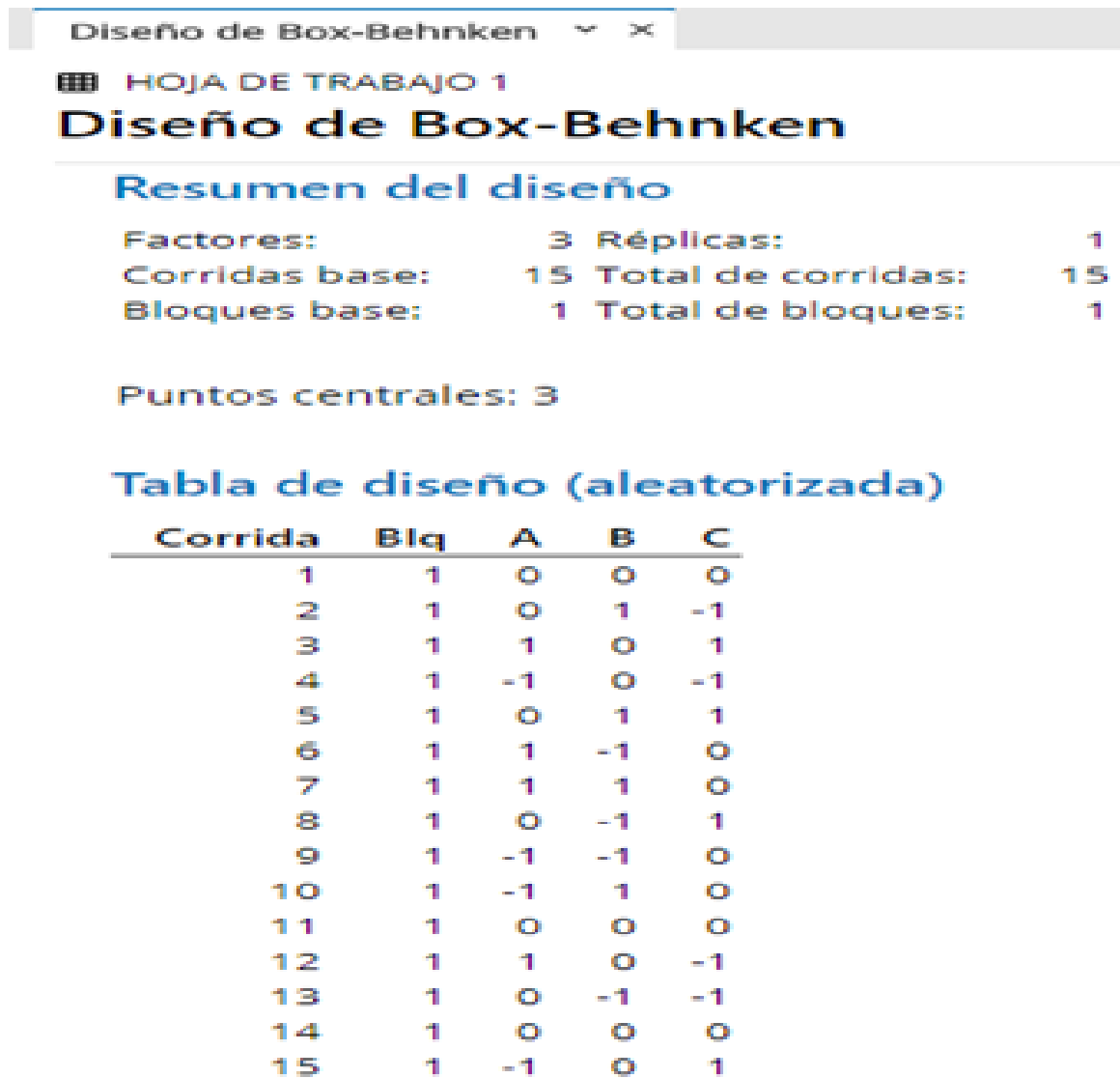
Fig. 6 Configuraciones tabla de resumen y tabla de diseño en resultados.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 6 se muestra como se elige las opciones tabla de resumen y tabla de diseño en resultados.

Fig. 7 Resumen de Diseño



Fuente: Elaboración propia

En la figura 7 se observa los resultados del resumen del diseño.

Fig. 8 Diseño de Box – Behnken.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
	OrdenEst	OrdenCorrida	TipoPt	Bloques	Temperatura	Inoculo	Humedad
1	14	1	0	1	35	7	90
2	10	2	2	1	35	8	85
3	8	3	2	1	38	7	95
4	5	4	2	1	32	7	85
5	12	5	2	1	35	8	95
6	2	6	2	1	38	6	90
7	4	7	2	1	38	8	90
8	11	8	2	1	35	6	95
9	1	9	2	1	32	6	90
10	3	10	2	1	32	8	90
11	15	11	0	1	35	7	90
12	6	12	2	1	38	7	85
13	9	13	2	1	35	6	85
14	13	14	0	1	35	7	90
15	7	15	2	1	32	7	95
16							
17							

Fuente: Elaboración propia

En la figura 8 se muestra Diseño de Box – Behnken con datos del proceso.

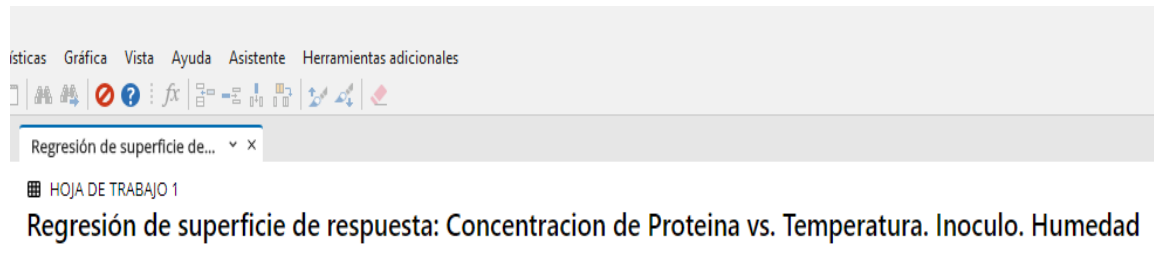
Fig. 9 Datos de la concentración de la proteína.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	OrdenEst	OrdenCorrida	TipoPt	Bloques	Temperatura	Inoculo	Humedad	Concentraci3n de Proteína
1	14	1	0	1	35	7	90	6,90
2	10	2	2	1	35	8	85	6,10
3	8	3	2	1	38	7	95	5,60
4	5	4	2	1	32	7	85	4,80
5	12	5	2	1	35	8	95	6,40
6	2	6	2	1	38	6	90	2,80
7	4	7	2	1	38	8	90	4,20
8	11	8	2	1	35	6	95	6,30
9	1	9	2	1	32	6	90	1,85
10	3	10	2	1	32	8	90	3,71
11	15	11	0	1	35	7	90	7,10
12	6	12	2	1	38	7	85	4,80
13	9	13	2	1	35	6	85	5,90
14	13	14	0	1	35	7	90	6,70
15	7	15	2	1	32	7	95	5,11
16								
17								

Fuente: Elaboración propia

En la figura 9 se reportan los datos de la concentración de la proteína en cada una de las condiciones de proceso.

Fig. 10 Regresión de superficie de respuesta.



Coeficientes codificados

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	6,900	0,295	23,36	0,000	
Temperatura	0,241	0,181	1,33	0,240	1,00
Inoculo	0,445	0,181	2,46	0,057	1,00
Humedad	0,226	0,181	1,25	0,266	1,00
Temperatura*Temperatura	-2,429	0,266	-9,12	0,000	1,01
Inoculo*Inoculo	-1,331	0,266	-5,00	0,004	1,01
Humedad*Humedad	0,606	0,266	2,28	0,072	1,01
Temperatura*Inoculo	-0,115	0,256	-0,45	0,672	1,00
Temperatura*Humedad	0,122	0,256	0,48	0,652	1,00
Inoculo*Humedad	-0,025	0,256	-0,10	0,926	1,00

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,511669	96,08%	89,02%	40,56%

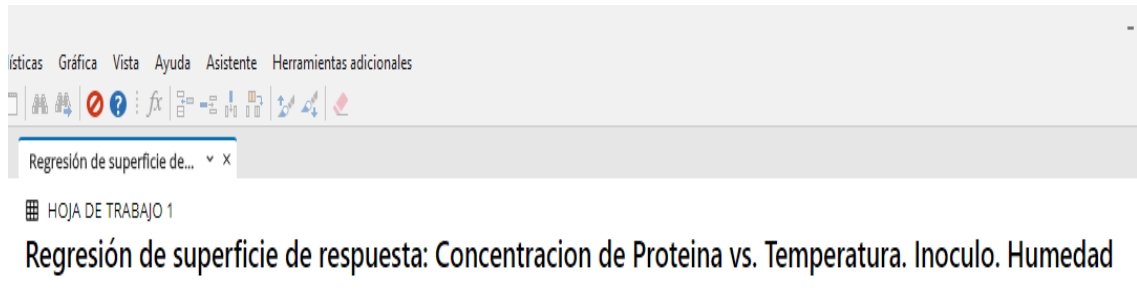
Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	32,0768	3,5641	13,61	0,005
Lineal	3	2,4593	0,8198	3,13	0,125
Temperatura	1	0,4656	0,4656	1,78	0,240
Inoculo	1	1,5842	1,5842	6,05	0,057
Humedad	1	0,4095	0,4095	1,56	0,266
Cuadrado	3	29,5021	9,8340	37,56	0,001
Temperatura*Temperatura	1	21,7803	21,7803	83,19	0,000
Inoculo*Inoculo	1	6,5436	6,5436	24,99	0,004
Humedad*Humedad	1	1,3571	1,3571	5,18	0,072
Interacción de 2 factores	3	0,1154	0,0385	0,15	0,927
Temperatura*Inoculo	1	0,0529	0,0529	0,20	0,672
Temperatura*Humedad	1	0,0600	0,0600	0,23	0,652
Inoculo*Humedad	1	0,0025	0,0025	0,01	0,926
Error	5	1,3090	0,2618		
Falta de ajuste	3	1,2290	0,4097	10,24	0,090
Error puro	2	0,0800	0,0400		
Total	14	33,3858			

Fuente: Elaboración propia

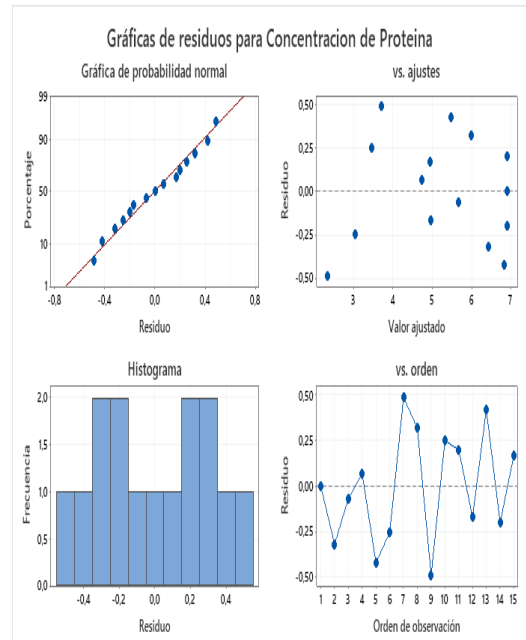
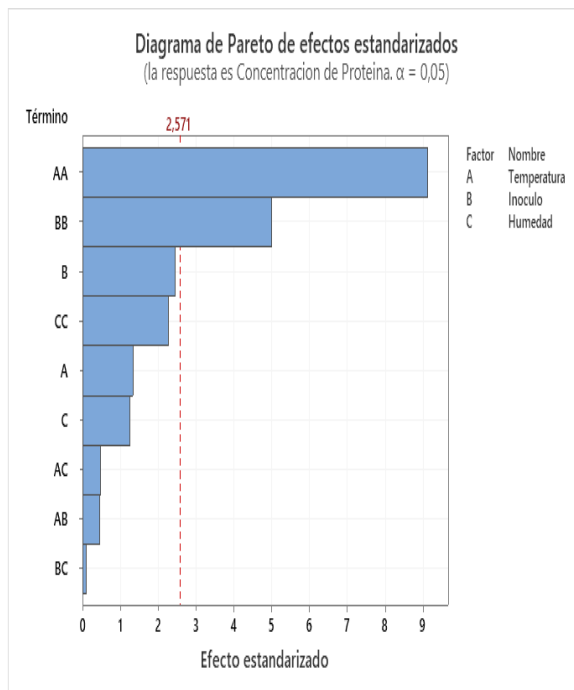
En la figura 10 se muestran los valores de p en los cuales se puede determinar que ni el inoculo, ni la temperatura, ni la humedad es inferior a 0,005 por lo tanto no hay efecto significativo. Y si tendría un efectos significativo en inoculo * inoculo que es de 0.004.

Fig. 11 Graficas Regresión de superficie de respuesta.



Ecuación de regresión en unidades no codificadas

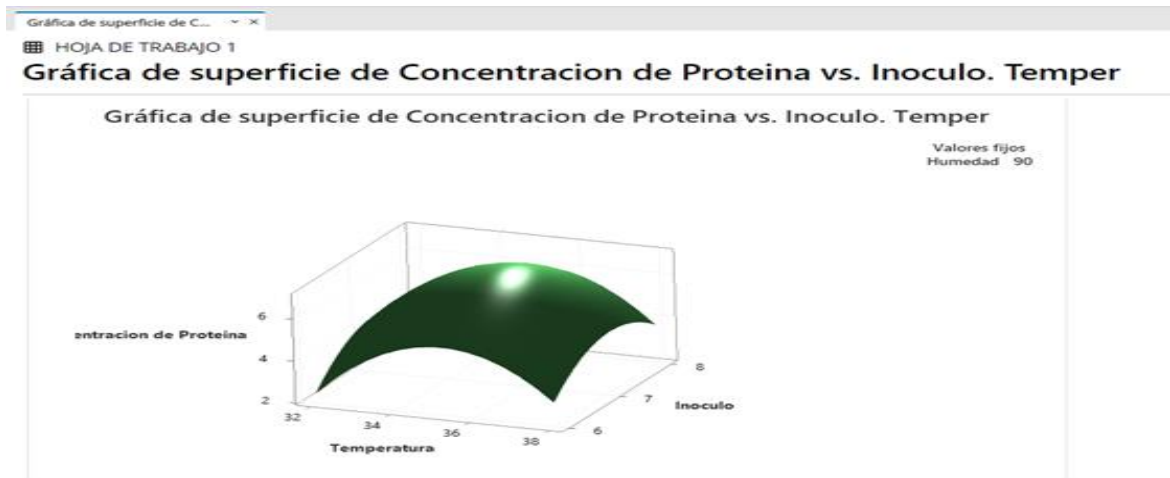
$$\begin{aligned} \text{Concentracón de Proteína} = & -189 + 18,50 \text{ Temperatura} + 20,87 \text{ Inoculo} - 4,57 \text{ Humedad} \\ & - 0,2699 \text{ Temperatura} * \text{Temperatura} - 1,331 \text{ Inoculo} * \text{Inoculo} \\ & + 0,0242 \text{ Humedad} * \text{Humedad} - 0,0383 \text{ Temperatura} * \text{Inoculo} \\ & + 0,0082 \text{ Temperatura} * \text{Humedad} - 0,0050 \text{ Inoculo} * \text{Humedad} \end{aligned}$$



Fuente: Elaboración propia

En la figura 11 el grafico de Pareto muestra que hay una relación directa entre la humedad, el inoculo y la temperatura, el diagrama de dispersión ajustado muestra que los valores están cercanos y secuenciales.

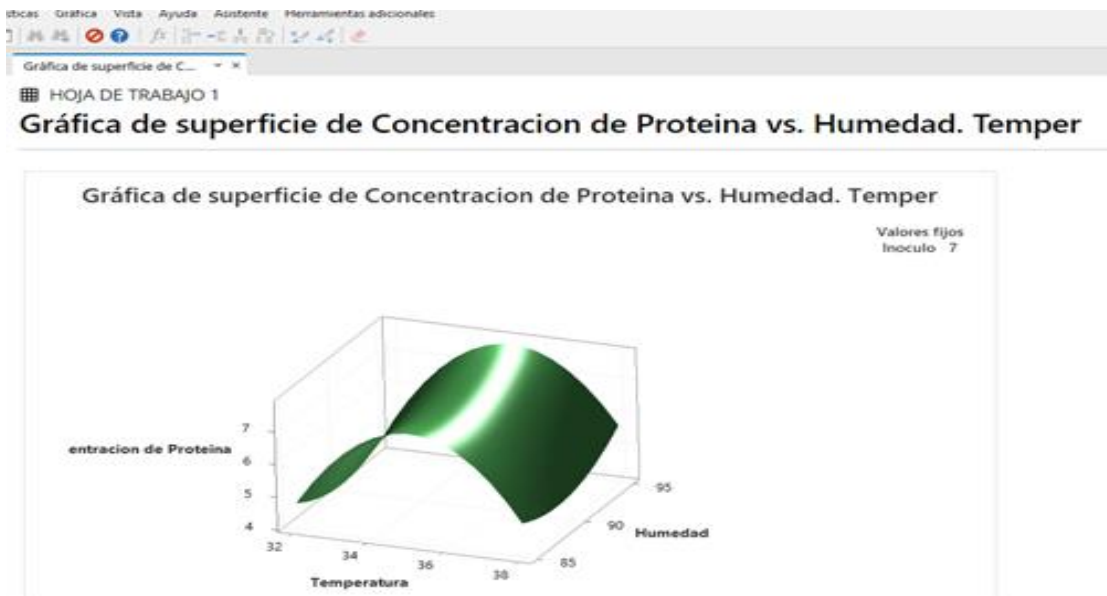
Fig. 12 Grafica de superficie de concentración de proteína. Temperatura vs inoculo.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 12 se observa que con una temperatura de 34,5 tendríamos resultados más altos de concentración de proteína.

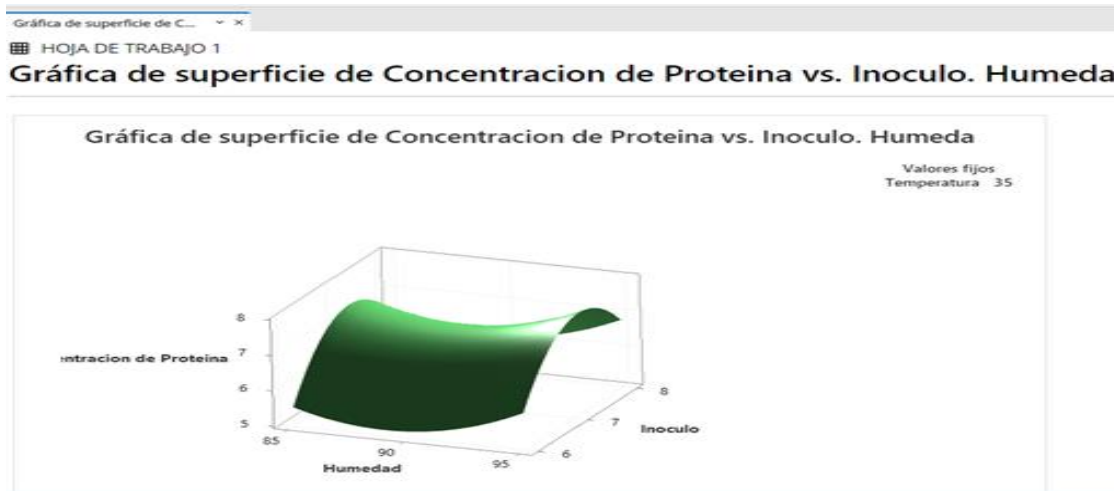
Fig. 13 Grafica de superficie de concentración de proteína. Temperatura vs Humedad.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 13 se observa que a una humedad de 89 da la mínima concentración de proteína.

Fig. 14 Grafica de superficie de concentración de proteína. Humedad vs inoculo.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 14 se observa que en la medida que la húmeda aumenta la concentración de proteína aumenta.

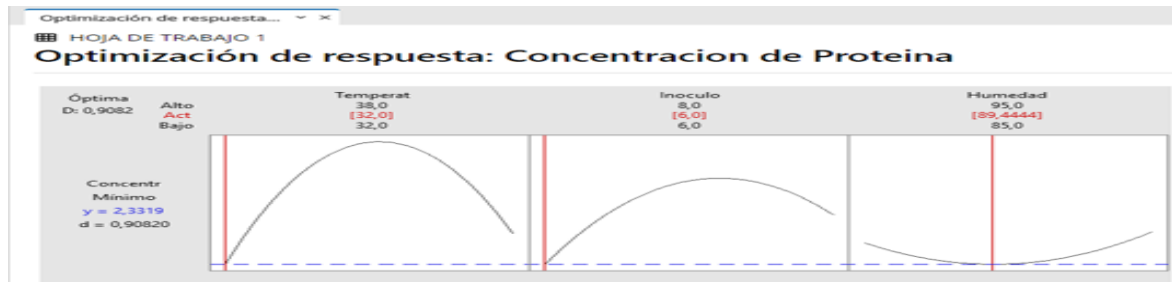
Fig. 15 Optimizador de respuesta concentración de proteína.

Optimización de respuesta: Concentración de Proteína						
Parámetros						
Respuesta	Meta	Inferior	Objetivo	Superior	Ponderación	Importancia
Concentración de Proteína	Mínimo		1,85	7,1	1	1
Solución						
Solución	Temperatura	Inoculo	Humedad	Concentración de Proteína Ajuste	Deseabilidad compuesta	
1	32	6	89,4444	2,33193	0,908204	
Predicción de respuesta múltiple						
Variable	Valor de configuración					
Temperatura	32					
Inoculo	6					
Humedad	89,4444					
Respuesta	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%		
Concentración de Proteína	2,332	0,444	(1,189. 3,475)	(0,590. 4,074)		

Fuente: Elaboración propia

En la figura 15 se muestra que en el resultado de la optimización mínima es una temperatura de 32°C y una humedad de 89,4444 para obtener un mínimo de concentración de proteína de 2,33193 g agua/g de proteína lo que indica que en estas condiciones estaría por encima de la concentración mínima que se encontró en la literatura.

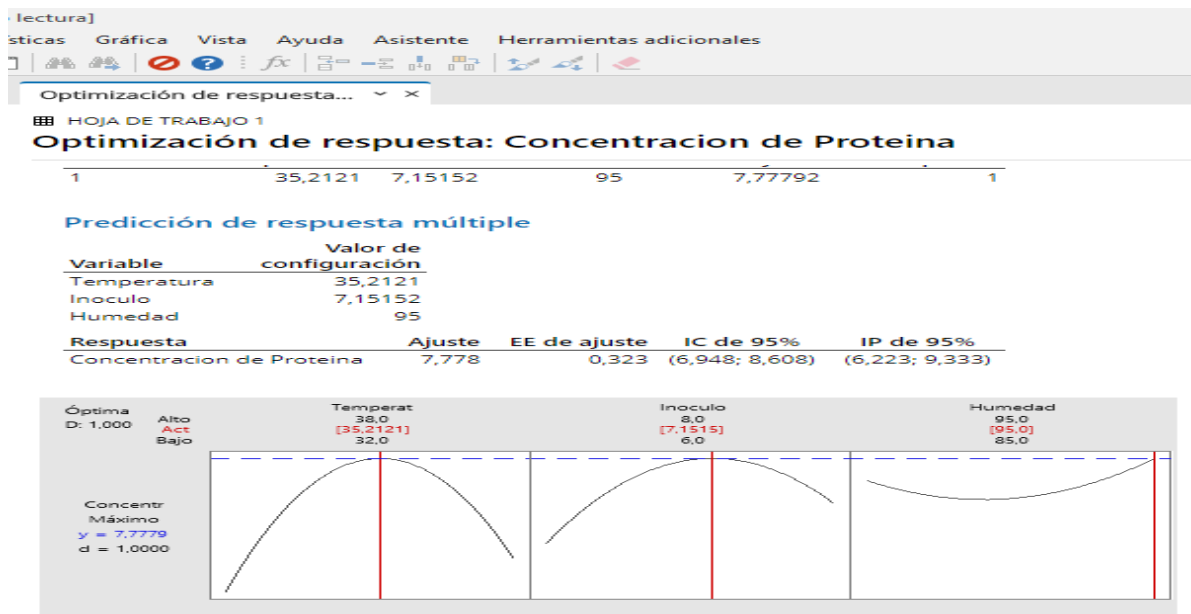
Fig. 16 Graficas optimizador de respuesta concentración de proteína para el mínimo.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 16 se muestra el comportamiento de cada una de las variables tanto en alto, en bajo y los valores optimizados.

Fig. 17 Optimización para el máximo.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 17 se muestra que el resultado de la optimización máxima es una temperatura de 35.21°C y una humedad de 95% para obtener una concentración máxima de proteína de 7,77792 que está muy por encima de lo reportado por (De Mendoza et al., 2006).

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que en nuevos trabajos podemos ajustar la temperatura de trabajo en un rango de temperatura entre 32°C-35°C una humedad entre 89-94% y una concentración de 10^6 tendremos mejores resultados.

Conclusiones y recomendaciones

CONCLUSIONES

El lactosuero tiene un gran potencial para la obtención de proteínas de valor alimentario con previo pre tratamiento que incluye la fragmentación y la hidrólisis para facilitar el proceso de fermentación que se realiza con *Kluyveromyces marxianus*, la cual es capaz de asimilar la lactosa, El producto obtenido tiene un contenido proteico que oscila entre 40 y 80% en base seca.

El concentrado proteico obtenido del lactosuero pueden ser usadas ampliamente en una gran variedad de alimentos gracias a sus propiedades gelificantes y emulsificantes, siendo la β -lactoglobulina el principal agente gelificante. Los geles de proteína de lactosuero pueden ser usados como hidrogeles.

La herramienta de transformación digital para la optimización de los procesos pueden intervenir en procesos agroindustriales, hacer más eficiente la gestión de los mercados con market places, marketing digital e inbound marketing, acceder a redes inteligentes para compartir y transferir conocimiento, gestionar los riesgos y la seguridad alimentaria y nutricional con sistemas integrados e inteligentes. Potenciar las estrategias competitivas y aportar en soporte y abastecimiento de necesidades, así como optimización de procesos para hacerlo más eficiente por medio de aplicaciones y así lograr más eficiencia y efectividad que se reflejara en aumentar la competitividad cada vez más exigente en el mercado actual.

En la fermentación, el sustrato se consume, los microorganismos crecen y se multiplican y se forma el producto. La biocinética de las fermentaciones estudia los procesos de consumo de sustrato, de formación de biomasa y de biosíntesis de productos. Las fermentaciones se pueden clasificar en dependencia de los perfiles de formación de biomasa y de producto.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que en nuevos trabajos podemos ajustar la temperatura de trabajo en un rango de temperatura entre 32°C-35°C una humedad entre 84-94% y una concentración de 10^6 tendremos mejores resultados.

RECOMENDACIONES

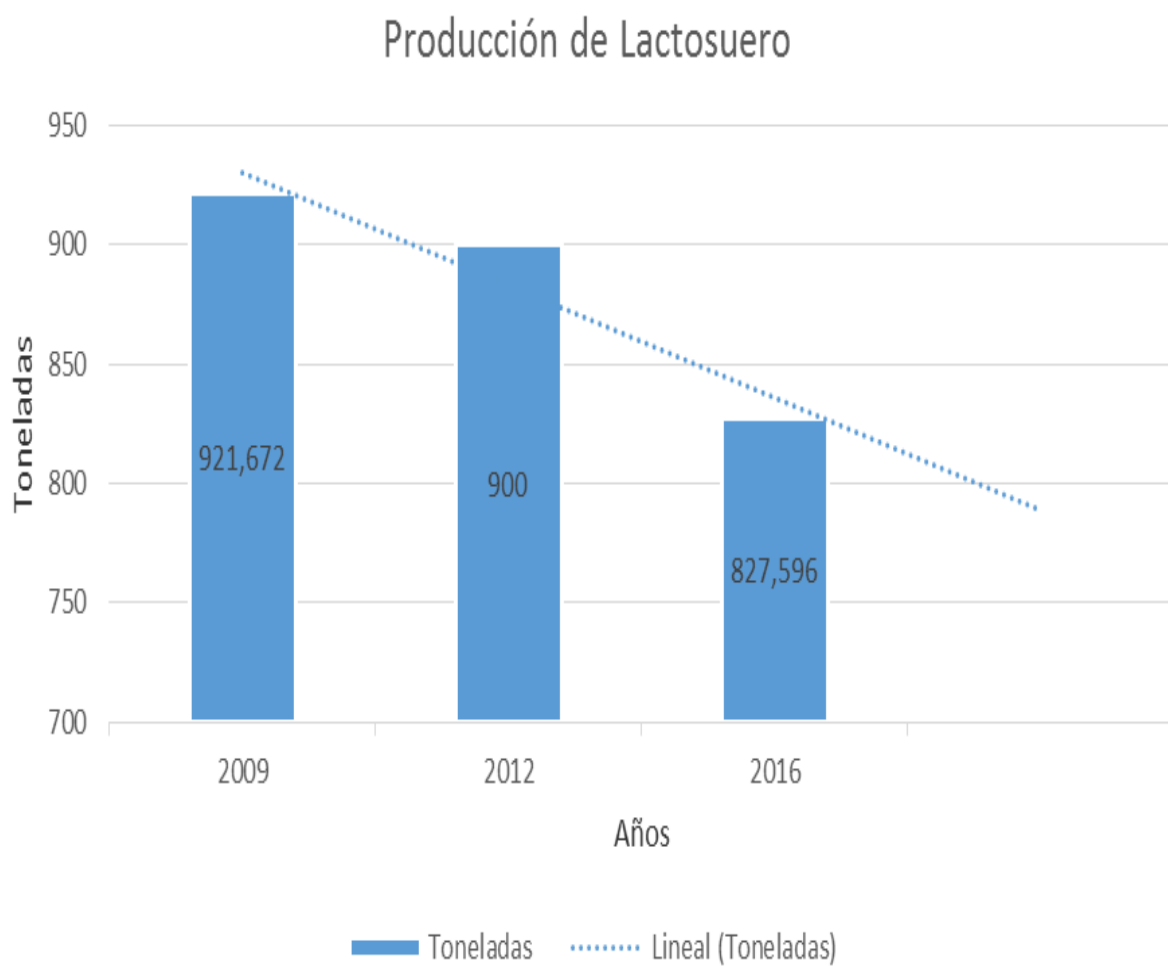
Para futuros estudios sería pertinente establecer rangos de temperatura y de humedad óptimos para obtener mejores resultado en la obtención de proteína de valor alimentaria a partir de lactosuero.

En próximos estudios también sería conveniente simular todo el proceso para obtener una optimización de la variable de respuesta y cuáles serían las condiciones ideales del proceso.

También sería conveniente establecer el uso específico del concentrado proteico que se obtiene y en que proceso se puede aplicar.

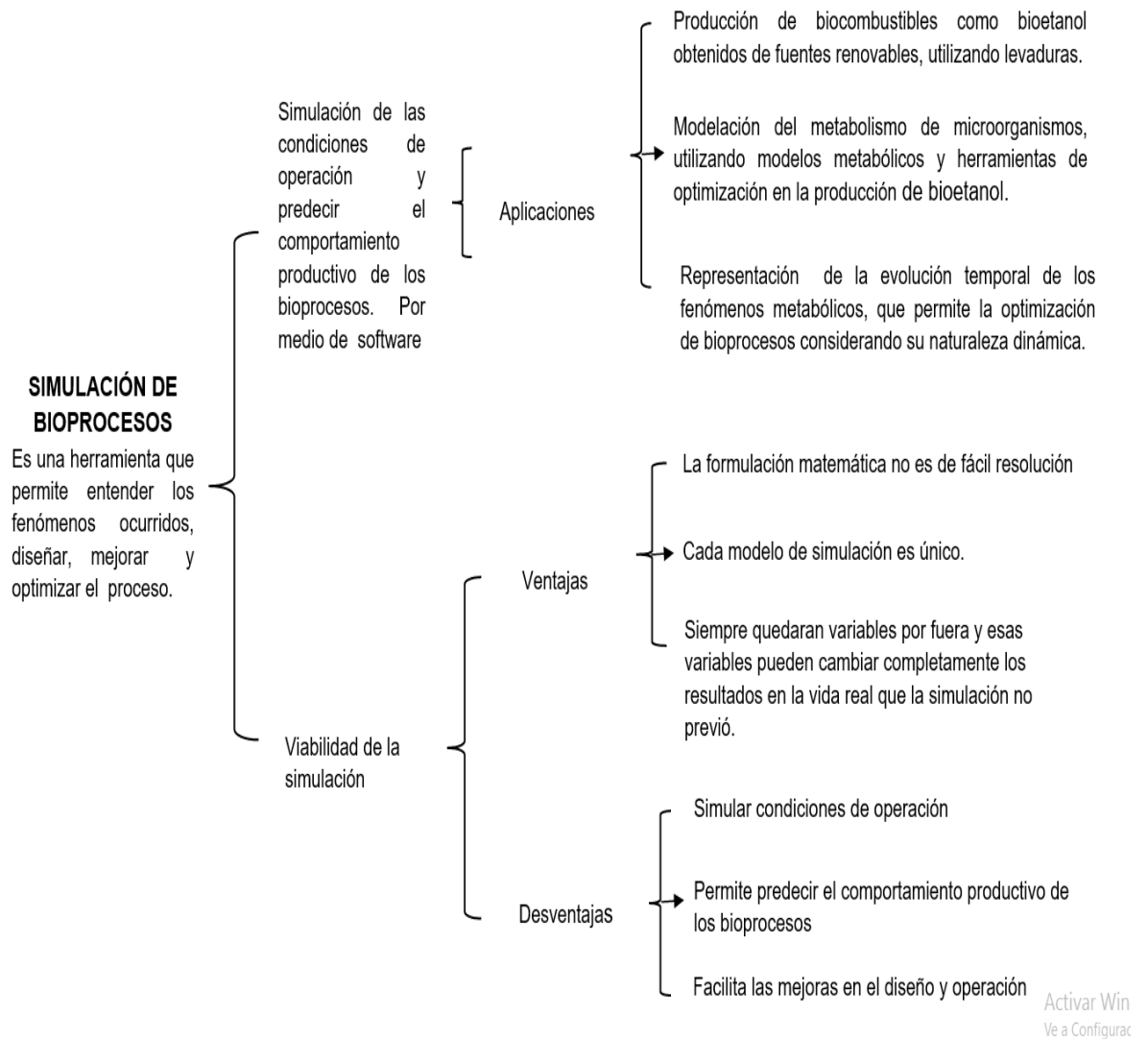
ANEXOS

A. ANEXO: PRODUCCIÓN DE LACTOSUERO EN COLOMBIA



Fuente: (Gómez Soto & Sánchez Toro, 2019)

B. ANEXO: SIMULACIÓN DE BIOPROCESOS



Fuente: (Modelado, 2019)

Bibliografía

- Castellanos, Ó., Ustate, E., & De Peña, M. (2011). Fundamentos para una política nacional en Biotecnología. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 3(2), 23–29.
- De Mendoza, M. E. C., Rivas, N., Dorta, B., De Delahaye, E. P., & Bertsch, A. (2006). Obtención y caracterización de dos concentrados proteicos a partir de biomasa de *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* cultivada en suero lácteo desproteínizado. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 16(3), 315–324.
file:///C:/Users/user/Desktop/UNAD/Entrega dos unad/OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE DOS CONCENTRADOS PROTEICOS A PARTIR DE BIOMASA DE *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* CULTIVADA EN SUERO LÁCTEO DESPROTEINIZADO.pdf
- Gómez Soto, J. A., & Sánchez Toro, Ó. J. (2019). Producción de galactooligosacáridos: alternativa para el aprovechamiento del lactosuero. Una revisión. *Ingeniería y Desarrollo*, 37(1), 129–158.
<https://doi.org/10.14482/inde.37.1.637>
- Modelado, E. (2019). *investigación Simulación de bioprocesos Modelado y simulación procesos biológicos de Sistemas Computacionales para el Modelado y Simulación Procesos Químicos y Biológicos*.
- Ortega, F. A., Pérez, O. A., & López, E. A. (2015). Comparación del desempeño de estimadores de estado no lineales para determinar la concentración de biomasa y sustrato en un bioproceso. *Informacion Tecnológica*, 26(5), 35–44.
<https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500006>
- Parra Huertas, R. A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 62(1), 4967–4982.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.011>
- Pinto, A. (2017). *Sector lechero en Colombia: Potencial desperdiciado - ANEIA - Universidad de Los Andes*.
<https://agronegocios.uniandes.edu.co/2017/09/22/sector-lechero-en-colombia-potencial-desperdiciado/>
- Ramírez Navas, J. S. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publicaciones e Investigación*, 6, 69.
<https://doi.org/10.22490/25394088.1100>
- Vargas, X. (2017). EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR

DE LACTO SUERO A NIVEL DE BIORREACTOR (BIOFLO 110)
UTILIZANDO *Kluyveromyces marxianus* Y *Kluyveromyces lactis* COMO
AGENTES FERMENTATIVOS. *Universidad De La Salle*, 6, 67–72.

Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y.
(2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein,
functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*,
33(6), 756–774. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>