

Aprovechamiento de ñame espino post-cosecha (*Dioscorea rotundata* P.) en la extracción de ácido láctico

Use of post-harvest hawthorn yam (*Dioscorea rotundata*) in the extraction of lactic acid

Ronald E. Tejada-Tovar¹, Lesly P. Tejada-Benítez², Candelaria N. Tejada-Tovar^{3*}, Angel Villabona-Ortíz⁴, Clemente Granados-Conde⁵

¹M.Sc. Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Grupo de Investigación en Diseño de Procesos y Aprovechamiento de Biomásas-IDAB, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.

²Ph.D. Toxicología Ambiental, Grupo de Investigación en Diseño de Procesos y Aprovechamiento de Biomásas-IDAB, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena. Cartagena-Colombia.

³M.Sc. Ingeniería Ambiental, Grupo de Investigación en Diseño de Procesos y Aprovechamiento de Biomásas-IDAB, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena. Cartagena-Colombia.

⁴M.Sc. Ingeniería Ambiental, Grupo de Investigación en Diseño de Procesos y Aprovechamiento de Biomásas-IDAB, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena. Cartagena-Colombia.

⁵M.Sc. en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Grupo de investigación Ingeniería, Innovación, Calidad Alimentaria y Salud INCAS, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cartagena. Cartagena-Colombia.

Email: ronald801104@hotmail.com

Recibido 2/09/17
Aceptado 22/12/18

Cite this article as: R. Tejada-Tovar, L. Tejada-Benítez, C. Tejada-Tovar, A. Villabona-Ortíz, C. Granados-Conde "Use of post-harvest hawthorn yam (*Dioscorea rotundata* P.) in the extraction of lactic acid", *Prospectiva*, Vol 16, N° 1, 45-50, 2018.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue obtener ácido láctico (AL) a partir del almidón de ñame espino post-cosecha (*Dioscorea rotundata* P.) mediante fermentación del almidón usando *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a 37°C. Se lavaron 5 kg de tubérculos frescos, descortezaron, redujo de tamaño, licuó y filtró; el filtrado se decantó lavándose el sedimento con agua destilada, filtrados al vacío y secados a 60°C por 12 h, seguido de molienda para su posterior empaque. El almidón se caracterizó determinando el contenido de fibra cruda, cenizas, grasa, proteínas, humedad residual y amilosa. El porcentaje de AL se determinó por titulación de 100 mL de muestra fermentada con NaOH usando fenolftaleína como indicador y la concentración se midió por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se obtuvo un almidón con un 73,22% de amilopectina, 28,7% de amilosa, 7,64% de proteína cruda, 0,26% de grasas totales, 0,88% de fibra cruda y 8,26% de humedad. Se encontró que el pH afecta significativamente las actividades enzimáticas y la asimilación de nutrientes por parte de los microorganismos utilizados y que la fermentación del almidón de ñame con los microorganismos seleccionados produjo un 16,26% de AL. Se concluye que el AL puede ser obtenido a partir del almidón de *D. rotundata*.

Palabras clave: Almidón nativo; *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*.

ABSTRACT

The aim of the present study was obtain lactic acid (LA) from post-harvest hawthorn (*Dioscorea rotundata*) starch was studied by fermentation of the starch using *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* at 37°C. Were washed 5 kg of fresh tubers, peeled, reduced in size, liquefied and filtered; the filtrate was decanted by washing the sediment with distilled water, vacuum filtered and dried at 60°C for 12 h, followed by milling for subsequent packing. Starch was characterized by determining the content of crude fiber, ash, grease, protein, residual moisture and amylose. The percentage of LA was determined by titration of 100 mL of NaOH fermented sample using phenolphthalein as indicator and the concentration was measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). Was obtained a star with 73,22% of amylopectin, 28,7% of amylose, 7,64% of crude protein, 0,26% of total fats, 0,88% of crude fiber and 8,26 of humidity. It was found that pH significantly affects the enzymatic activities and the assimilation of nutrients by the microorganisms used and that the fermentation of the yam starch with the selected microorganisms produced 16,26 % of LA. From results was concluded that LA could be obtained from *D. rotundata* starch.

Key words: Starch native; *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*.

1. INTRODUCCIÓN

La continua acumulación de los residuos sólidos a medida que aumenta la industrialización y el consumo de polímeros derivados del petróleo, generan un problema que afecta la salud de los seres vivos y el ambiente.

Uno de los materiales remanentes más persistentes son los plásticos, que permanecen en la extensión terrestre prácticamente indestructibles por miles de años [1, 2].

Para contrarrestar esta situación se han desarrollado nuevas alternativas con características similares a los polímeros, siendo productos amigables con el medio ambiente, los cuales se conocen como biopolímeros y en su mayoría se sintetizan a partir de materia prima rica en almidón, como es el caso del ñame espinoso el cual es producido en Colombia abundantemente, especialmente en la región norte, y se considera una opción viable para la producción de ácido poliláctico (APL) [3].

Como producto microbiano, la producción de AL a partir de fuentes biodegradables ha atraído la atención debido a las múltiples aplicaciones extendidas de sus polímeros, es decir como plástico biodegradable y biocompatible [4]. Las fermentaciones industriales actuales de AL usan cultivos de glucosa pura o de almidón, como el maíz y la papa como sustratos siendo su costo de pretratamiento bajo y su rendimiento alto, la materia prima es costosa y compite directamente con la alimentación de humanos [3]. Por lo tanto, la forma de obtener un alto rendimiento de producción y el título de ácido L-láctico se convierte en un desafío clave para la utilización eficaz de materias primas celulósicas [5].

El AL que se puede obtener a través de la fermentación, es un compuesto interesante, ya que puede ser utilizado en diferentes campos, como en las industrias alimentaria, farmacéutica y química como una molécula de bio-base para la bio-refinería. Además, el AL ha ganado recientemente más interés debido a la posibilidad de fabricar poli-láctico, un polímero verde que puede sustituir a los plásticos derivados del petróleo y ser aplicado en medicina para la regeneración de tejidos y en suturas, reparaciones e implantes. Una de las grandes ventajas de la fermentación es la posibilidad de utilizar desechos agroindustriales para obtener AL ópticamente puro [2, 6, 7].

En este sentido, diferentes investigadores han reportado la obtención de AL a partir de desechos industriales usando fermentación, obteniéndose una máxima producción de 143,7 g L⁻¹ y después de la purificación de la muestra de AL, la recuperación de azúcares reductores y la eliminación de proteína y color fueron 0,28%, 100% y 100%, respectivamente [8]. También se investigó el efecto del pH ácido (4, 5, 6 y no controlado) sobre la fermentación del AL a partir de residuos alimentarios mediante

experimentos de fermentación discontinua utilizando lodos metanogénicos, desechos de alimentos frescos y lodos activados anaeróbicos como inóculos. Se obtuvo que debido al aumento de la hidrólisis, la velocidad de degradación del sustrato y la actividad enzimática, se obtuvieron la concentración óptima de LA y el rendimiento a pH 5, independientemente del inóculo utilizado. La concentración de LA más alta (28,4 g L⁻¹) y el rendimiento (0,46 gg⁻¹-TS) se obtuvieron con residuos de alimentos frescos como inóculo. Además, después de que el sustrato se utilizó completamente, la población de bacterias de AL disminuyó bruscamente, y la producción de LA se convirtió en ácidos grasos volátiles (AGV) a pH 6 en un corto período. Los componentes de VFA variaron con el inóculo suministrado. El análisis de la comunidad microbiana utilizando secuenciación piro de alto rendimiento reveló que la diversidad disminuyó y una abundancia abundante de *Lactobacillus* (83,4-98,5%) se acumuló durante la fermentación con todos los inóculos [9].

En este contexto, el objetivo de este trabajo científico fue obtener AL a partir del almidón de ñame espinoso (*Dioscorea rotundata*) usando *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* por el método de rayado y decantación convencionales.

2. METODOLOGÍA

2.1 Obtención y caracterización del almidón

El almidón se obtuvo de 5 kg de tubérculos de ñame (*Dioscorea rotundata* P.) fresco, entero, sin señales de deterioro y en estado de madurez, los cuales se compraron en el municipio de San Juan Nepomuceno, ubicado en el norte del departamento de Bolívar (9° 37' latitud norte y 74° 15' longitud oeste). El material inicialmente se lavó para retirar polvo, tierra y suciedad en general, descortezó y lavo nuevamente; luego se redujo de tamaño y licuó con agua destilada para obtener una lechada, esta se filtró por medio de una tela. El filtrado se dejó en reposo, decantó, y el sobrenadante se eliminó, lavándose el sedimento obtenido con agua destilada, filtrados al vacío y secados a 60°C por 12 h, posteriormente se molió y empacó [10].

La caracterización del almidón obtenido se realizó determinando el contenido de fibra cruda, de cenizas, grasa, proteínas y amilosa.

Para la determinación del contenido de fibra cruda inicialmente se pesaron 2 g de almidón en un vaso de precipitado y se desengrasó con éter, después se agregaron 200 mL de ácido sulfúrico al 1,25% v/v caliente y se puso a reflujo durante 30 min. Se filtró en caliente a través de una tela en un Buchner, lavándose con agua destilada caliente hasta la eliminación de la reacción ácida y usando 200 mL de NaOH al 1,25% en peso se transfirió todo el material que pudo haber quedado en la tela al vaso de precipitado de la reacción anterior.

Luego se calentó por 30 min, al cabo de los cuales se filtró de nuevo a través de la tela y se lavó con agua caliente para eliminar la reacción alcalina. El residuo se filtró a través del crisol de Gooch. El contenido del crisol se llevó a una estufa cerrada y secándose hasta peso constante a una temperatura no mayor a 110°C, se enfrió y se pesó, después se calcinó el crisol y su contenido en una mufla a 550°C de una a dos horas, se enfrió y se pesó [10]. El porcentaje de fibra cruda se calculó a partir de la ecuación 1.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(P_1 - P_2)}{P_m} \times 100 \quad (1)$$

Donde P_1 es el peso en gramos del crisol calcinado, P_2 el peso en gramos del crisol vacío y P_m el peso en gramos de la muestra.

La determinación del contenido de cenizas se realizó pesando 2 g de muestra en una capsula de porcelana previamente tarada, esta fue llevada a una mufla que se encontraba a 300°C aproximadamente y se calcinó completamente aumentando la temperatura hasta 600°C por 6 h. Transcurrido el tiempo necesario se apagó la mufla y se esperó a que la temperatura bajara hasta 120°C aproximadamente, entonces se retiró el crisol con el residuo (cenizas) y se colocó en un desecador.

Por último, al cabo de por lo menos 40 minutos, se determinó el peso de las cenizas en una balanza analítica [10, 11, 12]. El porcentaje de cenizas se calculó a partir de la ecuación 2.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_1 - P_2}{P_m} \times 100 \quad (2)$$

Donde P_1 es el peso en gramos del crisol con cenizas, P_2 es el peso en gramos del crisol vacío, P_m es el peso en gramos de la muestra.

Para el cálculo del contenido de grasa se pesaron 100 g de almidón en un cartucho de papel filtro y se transfirió a un equipo Soxhlet, posteriormente se adicionó éter de petróleo suficiente para extraer las grasas en un balón previamente tarado, este proceso se llevó a cabo durante una hora, luego se evaporó el solvente del balón y se pesó con el contenido de grasa extraído [9, 13].

$$\% \text{ Grasas} = \frac{P_1 - P_2}{P_m} \times 100 \quad (3)$$

Donde P_1 es el peso en gramos del balón con grasa, el P_2 peso en gramos del balón vacío y P_m el peso en gramos de la muestra.

El contenido de proteínas se determinó pesando 0,5 g de almidón y se colocaron en un frasco digestor, luego se añadieron 8 mL de ácido sulfúrico concentrado

y posteriormente 0,20 g de catalizador ($K_2SO_4 + CuSO_4$). La muestra se colocó en una cabina de extracción para realizar la digestión, este proceso duro hasta cuando la solución tomo un color verde manzana transparente, posteriormente se dejó enfriar, y se le adicionaron 150 mL de agua aproximadamente, 14 mL de hidróxido de sodio al 50% y posteriormente se destiló por 40 minutos, el destilado se recogió en 6 mL de ácido bórico al 4% el cual contenía una solución indicadora mixta (rojo de metilo-azul de metileno). Una vez fue terminada la destilación, se valoró la solución con ácido sulfúrico 0,02 N [10].

$$\% N = \frac{V \times N \times 1,4}{g \text{ de muestra}} \quad (4)$$

Donde V es volumen de ácido sulfúrico gastado en la valoración, N la normalidad del ácido, siendo el % proteínas = $\% N \times 5,75$.

Se entiende por humedad residual la cantidad de agua que posee cualquier material en equilibrio con la atmósfera que lo rodea. Para la determinación del contenido de humedad residual se pesaron 3 g de almidón en una cápsula de porcelana, posteriormente se colocó el recipiente que contiene la muestra pesada, en una estufa, a una temperatura entre 100 y 105°C, por espacio de 4 a 6 horas. Luego se retiró de la estufa y se enfrió en un desecador, se pesó una vez frío el producto. Se determinó la pérdida de peso [10, 14]. Los resultados se expresaron en tanto por ciento mediante la ecuación 5.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{P_m} \times 100 \quad (5)$$

Donde P_1 es el peso en gramos de la cápsula con el alimento a analizar, P_2 el peso en gramos de la cápsula después del calentamiento y P_m el peso en gramos de la muestra.

Para determinar el contenido de amilosa se disolvieron 20 mg de almidón (base seca) en 8 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) al 90%, se agitó vigorosamente en un Vortex por 20 minutos y posteriormente se calentó la dispersión en un baño de maría Mermet a 85°C por 15 min. En seguida fue enfriada la mezcla y se aforó a 25 mL con agua destilada. Se tomó 1 mL de esta dispersión y se transfirió a un matraz aforado de 50 mL, al cual se le había agregado 40 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de yodo/yoduro de potasio (0,0025 M – 0,0065 M). Finalmente se aforó con agua, se homogenizó y se dejó en reposo por 15 min antes de leer en espectrofotómetro a 630 nm usando una curva patrón de almidón soluble (amilosa) estandarizado para la realización de los cálculos [10, 14, 15].

2.2 Siembra de microorganismos utilizados

Se empleó una mezcla de cultivos liofilizados de *Lactobacillus del brueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, los cuales se mantuvieron congelados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar su calidad. Para la activación de los microorganismos, se modificaron las cantidades de caldo y la concentración del inóculo; se tomaron 0,5 g de cultivo y se activaron en 50 mL de caldo MSR, incubando a 37°C durante 24 h. Posteriormente, se tomó 1 mL de la muestra y se realizaron 10 siembras en profundidad por duplicado en Agar MRS, incubándose a las mismas condiciones por 48 h [16].

2.3 Cuantificación del ácido láctico obtenido

La obtención del AL se realizó usando 1000 mL de la solución de almidón y 500 mL del cultivo bacteriano, manteniendo la temperatura a 37°C y pH 6. La cantidad de ácido láctico se determinó por triplicado, mediante la titulación de 10mL de muestra fermentada con NaOH 0,1 N, empleando fenolftaleína como indicador [17, 18]. El AL producido para su separación se filtró y luego centrifugó a 2500 rpm durante 5 min; posteriormente la solución se destiló con temperaturas entre 96 y 100°C . La concentración de AL se midió por HPLC Agilent Technology® (EEUU) con una columna C-610 H y 30 cm de longitud; H_3PO_4 al 0,1% y 0,5 mL/min como la fase móvil, detección UV a 210 nm y 30°C [17, 19]. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como la media \pm DE (desviación estándar). Las diferencias significativas se determinaron mediante análisis de *T de student*.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis bromatológicos del almidón de *Dioscorea rotundata* P. se presentan en la tabla 1. Los resultados mostrados en la tabla 1 establecen que el nivel de proteína se encuentra por encima del nivel permitido por la FDA en almidones de maíz (0,35%), por lo tanto, el almidón de ñame no es apto para ser utilizado en la elaboración de jarabes, debido a que presentó un mayor contenido de proteína (7,64%).

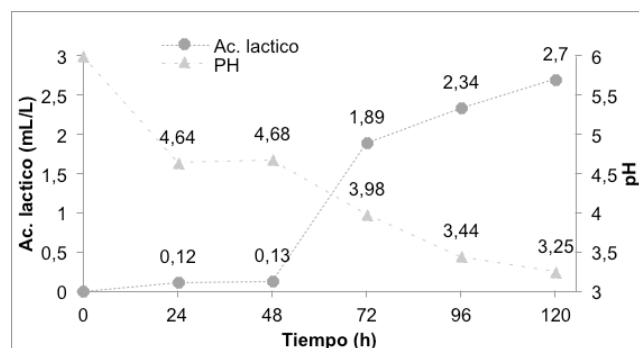
Tabla 1. Análisis químico proximal del almidón de ñame.
Table 1. Proximal chemical analysis of hawthorn yam starch.

Parámetros	Valores para almidón de ñame
Proteína cruda, %	7,64 \pm 0,04
Grasas, %	0,28 \pm 0,02
Amilosa, %	26,78 \pm 0,12
Amilopectina, %	73,22 \pm 0,12
Cenizas, %	0,48 \pm 0,08
Fibra cruda, %	0,88 \pm 0,03
Humedad, %	8,26 \pm 0,24

En la figura 1 se observó una disminución del pH en la solución inicial de almidón e inóculo lo cual se considera como indicador de producción de ácido, evidenciándose en las primeras 24 h una reducción pronunciada del pH e identificándose una estabilización entre las 120 - 144 h; esto se debe principalmente al consumo total del sustrato. Por otro lado, el contenido de proteína con respecto al de fibra es claramente mayor, por lo cual el almidón a partir de ñame espinoso puede ser considerado como el sustituto parcial o total de ingredientes con alto valor proteico en la elaboración de productos alimenticios, considerando la digestibilidad de dichas proteínas así como en la elaboración de AL [20].

La humedad residual en el almidón no se encontró dentro de los niveles normales con un valor de 8,26%, este valor puede alcanzar valores entre el 10 y el 13% [10]. Un contenido inferior del 15% de humedad se puede asociar con un nivel reducido de actividad con el agua, por tanto un tiempo de vida útil mayor [20]. El almidón consiste en dos tipos de moléculas, la amilosa y la amilopectina. Los almidones normales contienen 20-30% de amilosa, siendo la diferencia constituida por amilopectina. Los almidones cerosos y de alto contenido de amilosa contienen menos del 15% y más del 40% de amilosa, respectivamente, sin embargo, la proporción relativa de amilosa a amilopectina puede variar de cultivo a cultivo y con variedad. El contenido de amilosa del almidón es una característica importante que afecta su funcionalidad. Se ha encontrado que un aumento en el contenido de amilosa del almidón reduce la potencia de hinchamiento y la solubilidad de los almidones de coco y de trigo [21]. El porcentaje de amilosa del almidón, se encontró dentro de los límites esperados de 25 a 27 con un valor del 26,78 \pm 0,12 lo cual se asocia con menor tendencia a la retro-degradación del almidón y, por consiguiente, a una menor tendencia del producto a sufrir "envejecimiento" [9, 10]. Se ha estudiado la influencia de los perfiles de las cadenas de amilopectina en las propiedades de los almidones, encontrándose que a mayor presencia de estas los almidones muestran una viscosidad de pico más alta, aumentando así la capacidad de pegado [22, 23].

Figura 1. Relación entre la producción de AL y pH.
Figure 1. Ratio between LA production and pH.



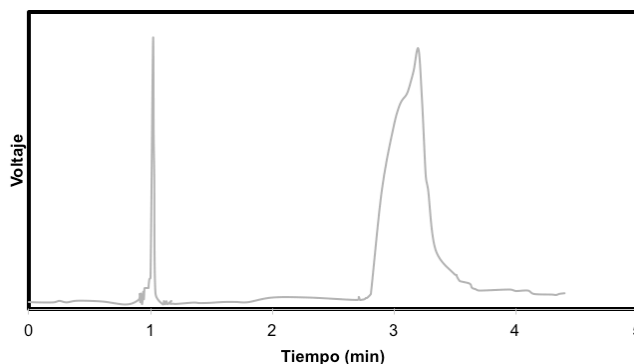
El contenido de lípidos (grasas totales) se encuentra dentro del rango, y es importante en el almidón debido a que estos forman un complejo con la amilosa, la cual tiende a constreñir el abultamiento y la solubilización de los gránulos de almidón; por esto se necesitan temperaturas superiores a 125°C para romper la estructura amilosa-lípido y solubilizar la fracción de amilosa, ya que la mayor parte de estos lípidos son lisofosfolípidos; es decir una cadena de ácido graso esterificada con ácido fosfórico [24]. Además, un mayor contenido de fibra cruda que de mineral (cenizas) implica un aumento de la capacidad de retención de agua, especialmente de la humedad relativa intermedia, según lo reportado por Zhang et al. (2011) y Cano et al. (2014), ya que una mayor cantidad de fibra y cenizas favorece las interacciones polares del almidón con las moléculas de agua [25, 26].

El AL y sus derivados como sales y esteres son ampliamente utilizados como en la industria alimenticia, química, farmacéutica, del plástico, textil, la agricultura, alimentación animal, entre otros. En la industria alimentaria se usa como acidulante y conservante y en la industria de plásticos es utilizado como precursor del ácido poliláctico (PLA), un polímero biodegradable con interesantes usos en la industria y la medicina; se considera que ésta es la principal aplicación del ácido y la causa por la cual ha aumentado considerablemente su demanda siendo la pureza óptica un pre-requisito para la síntesis de éste homopolímero [27, 28]. Gudjónsdóttir et al. (2016), obtuvieron almidón a partir de mafafa (*Xanthosoma sagittifolium*) en sus variedades roja y blanca, teniendo la variedad roja un contenido elevado de amilopectina (relación amilosa/amilopectina de 0,65), mientras que la variedad blanca era alta en contenido de amilosa (relación amilosa/amilopectina de 1,43) [29].

Los resultados de la figura 1, muestran que el pH afecta significativamente las actividades enzimáticas y la asimilación de nutrientes por parte de los microorganismos utilizados en la fermentación del almidón, siendo notorio que al aumentar la producción de AL el pH del caldo de cultivo cae rápidamente por debajo de 5 conduciendo a una disminución de la actividad celular e inhibiendo completamente su producción, ya que el pH del medio afecta significativamente el metabolismo bacteriano, que a su vez puede afectar el crecimiento celular y la producción de los metabolitos objetivo [30].

En la figura 2 el cromatograma correspondiente al AL producido al finalizar las 120 h obteniéndose una concentración 16,26% p/p, como consecuencia de la fermentación del almidón de ñame espino con *Lactobacillus del brueckii* ssp. bulgaricus y el *Streptococcus thermophilus*.

Figura 2. Cromatograma del AL.
Figure 2. LA chromatogram.



En la figura 2 se muestra la presencia de ácido láctico en el pico 3,4, para la concentración alcanzada; siendo los resultados del presente estudio superiores a los reportados por Komesu et al. (2014), los cuales fueron de 5% p/p al fermentar caña de azúcar para la producción de AL [31]. Al utilizar bacterias sobre la producción de ácido láctico se busca que éstas sean preferiblemente termófilas, que fermenten rápida y completamente los sustratos baratos, con adición mínima de nutrientes nitrogenados, que crezcan en valores bajos de pH, que presenten poca producción de biomasa y una despreciable cantidad de subproductos. Los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* son los más estudiados en la producción [12, 33], Medina et al. (2014), obtuvieron resultados para ácido láctico inferiores a los reportados en éste estudio con un porcentaje del 13,9% [34].

4. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los porcentajes de proteína cruda, grasas, amilosa, amilopectina, cenizas, fibra cruda y humedad obtenidos durante la caracterización fisico-química del material realizada se considera que el almidón obtenido a partir de ñame espino puede sustituir total o parcialmente ingredientes con alto valor proteico en la elaboración de productos alimenticios, con una vida útil larga debido al bajo contenido de agua en su estructura, además se puede establecer que el almidón cuenta con baja tendencia a sufrir 'envejecimiento'. Por lo anterior, se puede considerar el almidón sintetizado como un buen precursor para la síntesis de ácido láctico. El ácido láctico puede ser obtenido a partir de derivados de recursos renovables como el almidón de ñame espino con una concentración del 16,26% p/p, transformando este recurso natural en un precursor potencial, siendo un producto amigable con el medio ambiente, lo cual representa un proceso factible para la producción de ácido láctico a partir de desechos lignocelulósicos de origen agrícola.

AGRADECIMIENTOS

Al Convenio Universidad de Cartagena – Universidad Nacional de Medellín (2015), por facilitar la realización del proyecto que dio origen a éste artículo; tesis de maestría titulada “Obtención de ácido láctico por fermentación de almidón de ñame espinoso mediante el *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y el *Streptococcus thermophilus* para su uso en la producción de ácido poliláctico”, en el programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

REFERENCIAS

- [1] S. Khan, D. Deere, F. Leusch, A. Humpage, M. Jenkins, D. Cunliffe, “Extreme weather events: Should drinking water quality management systems adapt to changing risk profiles?”, *Water Research*, 85, 124 -136, 2015.
- [2] A. Rojas, L. Montaña, M. Bastidas, M., “Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*”, *Revista Colombiana de Química*, 44 (3), 5-10, 2015.
- [3] M. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, K. Sonomoto, “Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes”, *Biotechnology Advances*, 31 (6), 877–902, 2013.
- [4] S. Gandolfi, L. Pistone, G. Ottolina, P. Xu, S. Riva, “Hemp hurds biorefining: A path to green l-(+)-lactic acid production”, *Bioresource Technology*, 191, 59-65, 2015.
- Y. Zheng, Y. Wang, J. Zhang, J. Pan, “Using tobacco waste extract in pre-culture medium to improve xylose utilization for L-lactic acid production from cellulosic waste by *Rhizopus oryzae*”, *Bioresource Technology*, 218, 344-350, 2016.
- [5] K. Chookietwattana, “Lactic Acid Production from Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cassava Starch by *Lactobacillus plantarum*”, *APCBEE Procedia*, 8, 156-160, 2014.
- [6] M. Abdel-Rahman, Y. Xiajo, Y. Tashiro, Y. Wang, T. Zendo, K. Sakai, K. Sonomoto, “Fed-batch fermentation for enhanced lactic acid production from glucose/xylose mixture without carbon catabolite repression”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119 (2), 153-158, 2015.
- [7] M. Piassi-Bernardo, L. Fontes-Coelho, D. Sass, J. Contiero, “L-(+)-Lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste”, *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 640-646, 2016.
- [8] J. Tang, X. Wang, Y. Hu, Y. Zhang, Y. Li, “Effect of pH on lactic acid production from acidogenic fermentation of food waste with different types of inocula”, *Bioresource Technology*, 224, 544-552, 2017.
- [9] M. Torrenegra-Alarcón, G. León-Méndez, G. Matiz-Melo, J. Sastoque-Gómez, “Lipofilización del almidón de *Dioscorea rotundata* P. y su posible uso como agente emulsificante”, *Revista Cubana de Farmacia*, 49 (4), 605-617, 2015.
- [10] N. Techeira, L. Sívoli, B. Perdomo, A. Ramírez, F. Sosa, “Caracterización fisicoquímica, funcional y nutricional de harinas crudas obtenidas a partir de diferentes variedades de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), batata (*Ipomoea batatas* Lam) y ñame (*Dioscorea alata*) cultivadas en Venezuela”, *Interciencia*, 39 (3), 191-197, 2014.
- [11] D. Pleissner, F. Demichelis, S. Mariano, S. Fiore, I. Navarro-Gutiérrez, R. Schneider, J. Venus, “Direct production of lactic acid based on simultaneous saccharification and fermentation of mixed restaurant food waste”, *Journal of Cleaner Production*, 143, 615-623, 2017.
- [12] C. Granados-Conde, L. Guzmán, D. Acevedo, M. Díaz, A. Herrera, “Propiedades funcionales del almidón de sagu (*Maranta arundinacea*)”, *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 12 (2), 90-96, 2014.
- [13] A. Torres-Rapelo, P. Montero-Castillo, M. Duran-Lengua, “Propiedades fisicoquímicas, morfológicas y funcionales del almidón de malanga (*Colocasia esculenta*)”, *Revista Lasallista de Investigación*, 10 (2), 52-61, 2013.
- [14] L. Zarate-Polanco, L. Ramírez-Suárez, N. Otálora-Santamaría, L. Prieto, A. Garnica-Holguín, M. Cerón-Lasso, J. Argüelles, “Extracción y caracterización de almidón nativo de clones promisorios de papa criolla (*Solanum tuberosum*, Grupo Phureja)”, *Revista Latinoamericana de la Papa*, 18 (1), 1-24, 2014.
- [15] J. E. Quintero, A. Acosta, C. Mejía, “Lactid acid production via cassava-flour-hydrosylate fermentation”, *Vitae, Revista de la Facultad de química farmacéutica*, 19 (3), 287-293, 2012.
- [16] J. Tang, X. Wang, Y.S. Hu, Y. Zhang, Y. Li, “Lactic acid fermentation from food waste with indigenous microbiota: effects of pH, temperature and high OLR”, *Waste Management*, 52, 278–285, 2016.
- [17] Y. Tashiro, S. Inokuchi, P. Poudel, Y. Okugawa, H. Miyamoto, H. Miyamoto, K. Sakai, “Novel pH control strategy for efficient production of optically active L-lactic acid from kitchen refuse using a mixed culture system”, *Bioresource Technology*, 216, 52–59, 2016.
- [18] X. Li, Y. Chen, S. Zhao, H. Chen, X. Zheng, J. Luo, Y. Liu, “Efficient production of optically pure L-lactic acid from food waste at ambient temperature by regulating key enzyme activity”, *Water Research*, 70, 148–157, 2015.
- [19] Y. Román, N. Techeira, J. Yamarte, Y. Ibarra, M. Fasendo, “Caracterización físico-química y funcional de los subproductos obtenidos durante la extracción del almidón de musáceas, raíces y tubérculos”, *Interciencia*, 40 (5), 350-356, 2015.
- [20] Mweta, D.E. 2009. Physicochemical, Functional and Structural Properties of Native Malawian Cocoyam and Sweetpotato Starches. Tesis de Doctorado, University Of The Free State Bloemfontein, Sur Africa.
- [21] R. Mufumbo, Y. Baguma, S. Kashub, E. Nuwamanya, P. Rubaihayo, S. Mukasa, B. Hamaker, S. Kyamanywa, “Amylopectin molecular structure and functional properties of starch from three Ugandan cassava varieties”, *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 3, 195–202, 2011.
- [22] E. Berfort, G.E. Annorr, X. Shen, P. Rumpagaporn, K. Seetharaman, B.R. Hamaker, “Small differences in amylopectin fine structure may explain large functional differences of starch”, *Carbohydrate Polymers*, 140, 113-121, 2016.
- [23] J. Montoya, V.D. Quintero, J.C. Lucas, “Evaluación fisicotérmica y reológica de harina y almidón de plátano dominico hartón (*Musa paradisiaca* ABB)”, *Temas Agrarios*, 19 (2), 214-233, 2014.
- [24] Y. Zhang, M. Thompson, Q. Liu, “The effect of pea fiber and potato pulp on thermal property, surface tension, and hydrophilicity of extruded starch thermoplastics”, *Carbohydrate Polymers*, 86, 700-707, 2011.

- [25] A. Cano, A. Jiménez, M. Cháfer, C. González, A. Chiralt, "Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties", *Carbohydrate Polymers*, 111, 543-555, 2014.
- [26] A. Kumar, A. Gautam, D Dutt, "Biotechnological transformation of lignocellulosic biomass in to industrial products: an overview", *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 7, 149-168, 2016.
- [27] Y. Wang, Y. Tashiro, K. Sonomoto, "Fermentative production of lactic acid from renewable materials: recent achievements, prospects, and limits", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119, 10-18, 2015.
- [28] M. Gudjónsdóttir, A.A. Boakye, F. Dufle, & I. Oduru. (2016, Jun.) Characterization of red and white cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) roots, flours and starches during heating by low field NMR. Presentado en Proceedings of the XIII International Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science 2016, 49-53. [En Línea] Disponible: https://www.impublications.com/subs/mrfs/v16/M16_0049.pdf
- [29] L. Thapa, S. Lee, C. Park, S. Kim, S. "Production of L-lactic acid from metabolically engineered strain of *Enterobacter aerogenes* ATCC 29007", *Enzyme and Microbial Technology*, 102, 1-8, 2017.
- [30] A. Komesu, P.F. Martins, B.H. Lunelli, J. Oliveira, R.M. Filho, M.R. Wolf-Maciel, "Evaluation of lactic acid purification from fermentation broth by hybrid short path evaporation using factorial experimental design", *Separation and Purification Technology*, 136, 233-240, 2014.
- [31] S. Marques, C. Matos, F. Gírio, J. Roseiro, J. Santos, "Lactic acid production from recycled paper sludge: Process intensification by running fed-batch into a membrane-recycle bioreactor", *Biochemical Engineering Journal*, 120, 63-72, 2017.
- [32] J. Medina, F. García, B. Paricaguán, J. Rojas, X. Castro, F. Lugo, "Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*Prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (APL)", *Revista INGENIERÍA UC*, 21 (2), 52 - 59, 2014.
- [21] R. Mufumbo, Y. Baguma, S. Kashub, E. Nuwamanya, P. Rubaihayo, S. Mukasa, B. Hamaker, S. Kyamanywa, "Amylopectin molecular structure and functional properties of starch from three Ugandan cassava varieties", *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 3, 195-202, 2011.
- [22] E. Berfort, G.E. Annorr, X. Shen, P. Rumpagaporn, K. Seetharaman, B.R. Hamaker, "Small differences in amylopectin fine structure may explain large functional differences of starch", *Carbohydrate Polymers*, 140, 113-121, 2016.
- [23] J. Montoya, V.D. Quintero, J.C. Lucas, "Evaluación fisicotérmica y reológica de harina y almidón de plátano dominico hartón (*Musa paradisiaca* ABB)", *Temas Agrarios*, 19 (2), 214-233, 2014.
- [24] Y. Zhang, M. Thompson, Q. Liu, "The effect of pea fiber and potato pulp on thermal property, surface tension, and hydrophilicity of extruded starch thermoplastics", *Carbohydrate Polymers*, 86, 700-707, 2011.
- [25] A. Cano, A. Jiménez, M. Cháfer, C. González, A. Chiralt, "Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties", *Carbohydrate Polymers*, 111, 543-555, 2014.
- [26] A. Kumar, A. Gautam, D Dutt, "Biotechnological transformation of lignocellulosic biomass in to industrial products: an overview", *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 7, 149-168, 2016.
- [27] Y. Wang, Y. Tashiro, K. Sonomoto, "Fermentative production of lactic acid from renewable materials: recent achievements, prospects, and limits", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119, 10-18, 2015.
- [28] M. Gudjónsdóttir, A.A. Boakye, F. Dufle, & I. Oduru. (2016, Jun.) Characterization of red and white cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) roots, flours and starches during heating by low field NMR. Presentado en Proceedings of the XIII International Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science 2016, 49-53. [En Línea] Disponible: https://www.impublications.com/subs/mrfs/v16/M16_0049.pdf
- [29] L. Thapa, S. Lee, C. Park, S. Kim, "Production of L-lactic acid from metabolically engineered strain of *Enterobacter aerogenes* ATCC 29007", *Enzyme and Microbial Technology*, 102, 1-8, 2017.
- [30] A. Komesu, P.F. Martins, B.H. Lunelli, J. Oliveira, R.M. Filho, M.R. Wolf-Maciel, "Evaluation of lactic acid purification from fermentation broth by hybrid short path evaporation using factorial experimental design", *Separation and Purification Technology*, 136, 233-240, 2014.
- [31] S. Marques, C. Matos, F. Gírio, J. Roseiro, J. Santos, "Lactic acid production from recycled paper sludge: Process intensification by running fed-batch into a membrane-recycle bioreactor", *Biochemical Engineering Journal*, 120, 63-72, 2017.
- [32] J. Medina, F. García, B. Paricaguán, J. Rojas, X. Castro, F. Lugo, "Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*Prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (APL)", *Revista INGENIERÍA UC*, 21 (2), 52 - 59, 2014.