

Tendencias de la supervisión por cromatografía líquida basada en inteligencia artificial

Tinoco-Díaz, Aramis de Jesús; Martínez-Sibaja, Albino* ; Rodríguez-Jarquín, José Pastor; Bello-Ramírez, Angélica Mara; Posada-Gómez, Rubén

Tecnológico Nacional de México - Instituto tecnológico de Orizaba.

* Autor de correspondencia: albino.ms@orizaba.tecnm.mx

Introducción

El 60% de los productos lácteos elaborados en la región de Orizaba, Veracruz, México, son adquiridos por restaurantes asociados a la cámara nacional de la industria restaurantera y de alimentos condimentados (CANIRAC), lo que reitera la calidad de los productos elaborados dentro de la región. Pese a esto, la leche es considerada un alimento perecedero, a pesar de contar con altas condiciones de almacenamiento y transporte, es un hecho inevitable la presencia de lactobacilos fermentativos en cada mililitro almacenado de leche, dichos lactobacilos, con el tiempo, provocan acidez en el producto lácteo, por lo que hoy en día se contemplan mejores métodos de preservación para su posterior fabricación.

Producción de queso

En la elaboración de queso, la leche es sometida a un proceso de fermentación, provocado por el accionamiento de los lactobacilos presentes en el producto lácteo, en este proceso la lactosa, es transformada en ácido láctico, en donde se reduce el pH, se inhiben agentes patógenos, además de aportar protones (H⁺), encargados de provocar la coagulación que neutraliza la estabilidad de las caseínas, en donde se consume de 10% a 20% de la lactosa, permitiendo la formación del queso. La eliminación de lípidos durante la fabricación del queso permite la formación de residuos denominados lactosuero.

Lacto suero

Es una sustancia líquida translúcida, producto de la separación del coágulo de leche en la producción de queso. El Lactosuero consta de 5% de lactosa, 93% agua, 0.85% proteína, 0.53% de minerales y 0,36% de grasa. El lactosuero al ser separado de la leche durante la fabricación del queso es considerado un residuo contaminante por su alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO), esta demanda bioquímica de oxígeno se encuentra en un rango de 30,000-50,000 mg/L aproximadamente. Los desechos ya no pueden ser empleados para otra función, por lo que se han abordado propuestas de manipulación y reducción de residuos, siendo depositados en un digestor anaerobio de flujo ascendente.

Digestor anaerobio de flujo ascendente UASB

Propuesto en 1970, con el objetivo de tratar residuos orgánicos, el proceso emplea microorganismos para realizar una degradación biológica sin presencia de oxígeno (O). Esto

Cómo citar: Tinoco-Díaz, A. de J., Martínez-Sibaja, Albino*; Rodríguez-Jarquín, José Pastor; Bello-Ramírez, Angélica Mara; Posada-Gómez, Rubén. Tendencias de la supervisión por cromatografía líquida basada en inteligencia artificial. *Agro-Divulgación*, 4(3). <https://doi.org/10.54767/ad.v4i3.324>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Julio 2024.

Agro-Divulgación, 4(3). Mayo-Junio. 2024. pp: 79-87.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



permite transformar la materia biológica en gases portadores de contenido energético como biogás, los componentes difíciles de degradar durante el trabajo del digestor son denominados lodo. El digestor está compuesto por tres zonas distintas:

- La zona de lodo, donde se concentran los microorganismos encargados de degradar los residuos orgánicos.
- La zona de dispersión, que alberga los microorganismos del digestor.
- La zona de separación gas-líquido-sólido.

Para lograr una digestión adecuada, es esencial cumplir con características específicas, al satisfacer cada uno de los parámetros, se considera que la digestión obtendrá resultados positivos.

Temperatura: Es un factor crucial ya que los microorganismos son sensibles a variaciones de temperatura, el promedio de temperatura en digestores es entre 35 °C y 55 °C.

Homogeneidad: La mezcla de sustratos en el digestor debe ser homogénea, para garantizar un contacto eficiente entre microorganismos y residuos.

pH: El rango óptimo de pH para la actividad de microorganismos en el digestor anaerobio es ligeramente ácido a neutro, normalmente entre 6.52 y 7.5. es esencial supervisar y ajustar el parámetro según sea necesario.

Relación de carbono/nitrógeno: Mantener la proporción adecuada de carbono y nitrógeno en los sustratos ofrece un óptimo rendimiento del proceso de digestión, la relación de carbono y nitrógeno depende del tipo de residuo a tratar.

Tiempo de retención hidráulica: El tiempo que el sustrato permanece sumergido dentro del digestor determina la acción microbiana, un tiempo de retención adecuado garantiza la descomposición total de la materia orgánica.

Inoculación inicial: La introducción de microorganismos anaerobios activos al inicio del proceso acelera la digestión y mejora la estabilidad de operación.

Carga orgánica: Es crucial supervisar la cantidad y calidad de los sustratos orgánicos, ya que sobrecargar el sistema puede interrumpir el proceso de digestión.

Recolección de biogás: Utilizar tecnología de recolección de gas, asegura el máximo empleo de los recursos generados en el digestor anaerobio.

Tratamiento de lactosuero por UASB

Tratar lactosuero mediante la digestión anaerobia de flujo ascendente (UASB) implica, en primera instancia, depositar el residuo en la parte inferior del reactor. Luego, en la fase de hidrólisis, la materia orgánica inicial se descompone por microorganismos, reduciendo así los residuos de gran tamaño, como los azúcares y aminoácidos.

La fase de acidogénesis emplea bacterias acidogénicas que transforma los compuestos reducidos en ácidos orgánicos, incluyendo el tratamiento de ácidos grasos volátiles, como ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico.

Los ácidos grasos volátiles entran a la fase de acetogénesis y metanogénesis, donde el agua del digestor fluye de manera ascendente a través de un manto de lodo, constituido por gránulos o microorganismos metanogénicos. Al entrar en contacto el lactosuero con el

manto de lodo, se inicia la producción de gases en condiciones anaerobias, principalmente metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). Simultáneamente, se provoca una circulación interna que permite la formación de gránulos dentro del reactor.

El gas producido dentro del manto de lodo se adhiere a las partículas biológicas, por lo que, todo el gas es forzado a ascender hasta la superficie del reactor, es necesario promover la liberación del gas adherido a las partículas biológicas. Al entrar en contacto estas partículas con deflectores desgasificadores, las partículas biológicas son forzadas a ascender hasta la superficie del manto de lodo. Una vez libre de partículas, el gas se extrae y almacena en una bóveda de recolección de gases, instalada en la parte superior del digestor. En circunstancias de residuos líquidos con alta concentración de sólidos, estos se dirigen directamente a la superficie del manto de lodo mediante deflectores. El objetivo principal de la digestión anaerobia es transformar la materia orgánica mediante reacciones bioquímicas, para producir biogás con alto contenido en CH_4 , lo que abre la posibilidad de su empleo como energía.

Características del biogás

Basado en la literatura enfocada al tratamiento de biogás, se menciona que el biogás, al estar conformado por diversos gases, posee propiedades que lo hacen más liviano que el aire. Esta característica establece que el biogás tiende a evaporarse y perder volumen con el paso del tiempo. Usualmente, el biogás está constituido por gases como: Metano (54% a 70%), dióxido de carbono (27% a 45%), nitrógeno (1% a 10%), hidrógeno (1% a 10%), monóxido de carbono (0.10%), sulfuro de hidrógeno (0.15%).

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) presente en el biogás generado contiene ácido sulfhídrico (H_2S), el cual es considerado un gas corrosivo para los equipos de laboratorio. Por lo tanto, lo es necesario eliminarlo para poder utilizar el biogás de manera efectiva.

Existen tecnologías para eliminar la presencia del ácido sulfhídrico, empleando procesos químicos y biológicos relacionados con la bacteria (*Thiobacillus ferrooxidans*), o el uso de reactivos con cloruro de hierro (FeCl_3). En la purificación de biogás se busca reducir la presencia de dióxido de carbono y sulfuro de hidrógeno. En la reducción de dióxido de carbono, se aumenta el valor del biogás como combustible, mientras que en

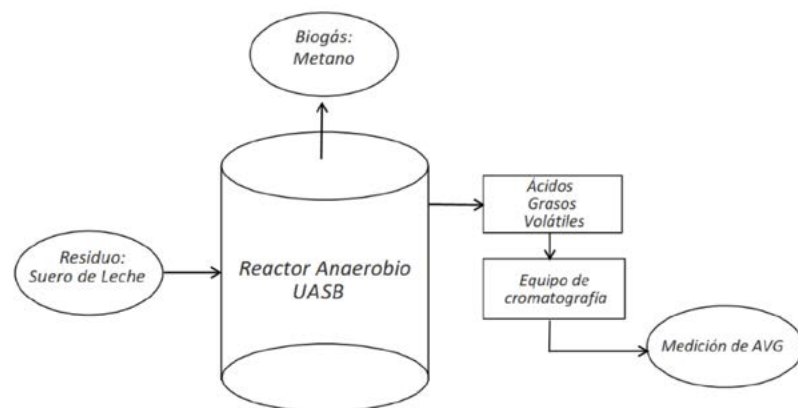


Figura 1. Tratamiento de lactosuero por tecnología UASB.

la reducción de sulfuro de hidrogeno se reduce el efecto corrosivo en metales que interactúan con el biogás.

Una vez reducidas las impurezas del biogás, por su temprana comercialización, se emplea en mediana escala para cocinar en combustión directa. No obstante, el biogás puede ser empleado para iluminación, calefacción y como combustible en motores de combustión interna, con un poder calorífico promedio de 50% y 70% del gas natural, se requiere el uso de trampas de limadura de hierro en las líneas de transporte debido a la presencia de ácido sulfhídrico en el biogás, que podría ocasionar corrosión prematura en los equipos (Valdivia, 2000).

Ácidos grasos Volátiles AGV

Los ácidos grasos volátiles (AGV) operan como intermediarios degradativos en la segunda etapa de degradación dentro de un digester anaerobio, además de ser precursores directos en la formación de metano (CH_4). Se consideran ácidos grasos volátiles a compuestos orgánicos ácidos generados durante el proceso de fermentación anaerobia de materiales orgánicos, producida por bacterias del sistema digestivo, tanto animales como en seres humanos. Estos residuos tienden a evaporarse con facilidad en condiciones normales de temperatura y presión.

Para estimar el nivel de composición de los ácidos grasos volátiles producidos durante la digestión anaerobia de flujo ascendente, las muestras capturadas son sometidas a métodos de cromatografía líquida, con el fin de separar y cuantificar los materiales que conforman al ácido graso en el digester. A continuación, se describirá el proceso de medición de AGV producido en un reactor anaerobio mediante cromatografía líquida.

Cromatografía líquida de alto rendimiento HPLC

La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) es una técnica analítica utilizada para separar, identificar y cuantificar componentes en una mezcla. El método implica una fase móvil en estado líquido y una fase estacionaria en estado sólido o líquido. La fase móvil lleva la muestra través de la fase estacionaria, donde fuerzas químicas y físicas actúan con la mezcla a analizar, y las dos fases determinan la retención y separación de cada componente que conforman la mezcla. Un equipo de cromatografía líquida de alto rendimiento está compuesto generalmente por cinco componentes: bomba, inyector, horno (columna), detector y registrador, como se observa en la Figura 2.

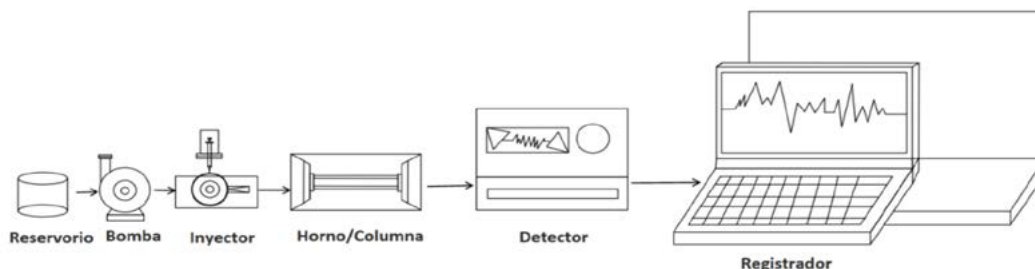


Figura 2. Estructura de un cromatógrafo líquido.

La bomba es responsable de ingerir la fase móvil del reservorio, haciéndola fluir por el sistema a una velocidad constante y precisa, normalmente operan a 6000 psi, dependiendo de factores como el tiempo, tamaño de la columna y composición de la fase móvil.

El inyector es uno de los componentes cruciales, el volumen promedio de muestras inyectado varía entre 5 μL y 5 mL . Realizar una inyección presurizada de manera precisa, contribuye a una detección correcta, además de ofrecer repetibilidad en las pruebas.

El horno regula y mantiene la temperatura dentro de la columna, la temperatura está directamente relacionada a la propiedad de retención y selectividad de la columna. El material de la columna suele ser acero inoxidable, una longitud promedio de 50 a 300 mm y se encuentra rellena de fase estacionaria.

El detector captura los cambios en los efluentes de la columna, los convierte en señales eléctricas, las cuales son enviadas al registrador. Existen detectores selectivos que miden propiedades físicas o químicas de los solutos en la mezcla, así como detectores universales que miden una sola propiedad física de la fase móvil. Finalmente, el registrador procesa y recolecta las señales producidas por el detector, y los transcribe en un cromatograma para su posterior lectura.

Consideraciones de AGV para cromatografía líquida

El empleo de técnicas de cromatografía líquida en ácidos grasos volátiles producidos en un digestor anaerobio, permite realizar un análisis de los residuos que conforman los AGV, además de separarlos mediante la tecnología de cromatografía líquida.

El análisis de los ácidos grasos volátiles por métodos de cromatografía líquida, requiere de cumplir con condiciones específicas del equipo, las especificaciones del equipo de cromatografía serán determinadas por el ácido graso volátil a analizar. Al contemplar estas características se garantiza una correcta separación y detección de los materiales que conforman a la muestra:

Solubilidad: El ácido graso volátil debe ser soluble en el solvente designado como fase móvil en el cromatógrafo. El tipo de solvente depende de la configuración de cromatografía líquida utilizada.

Compatibilidad: La fase estacionaria del equipo de cromatografía debe ser compatible con los ácidos grasos volátiles a analizar.

Concentración: La concentración de la muestra a inyectar necesita estar en el rango lineal del detector para garantizar una cuantificación precisa, un volumen adecuado evita saturar el detector

Pureza: La integridad de la muestra a inyectar influye en la resolución y detección, se debe someter a filtros para eliminar impurezas que puedan interferir en las pruebas.

Detector: El tipo de detector se selecciona basado en el tipo de cromatografía líquida incluyendo el tipo de sensibilidad y selectividad requeridas, pueden emplearse detectores de refracción, detectores uv y detectores de fluorescencia.

Volumen: El volumen de la muestra a inyectar debe ser preciso. Un volumen de inyección superior a la requerida sobrecarga la columna, afectando la resolución de la prueba,

mientras que un volumen inferior al requerido produce señales débiles, lo que conduce a malas lecturas.

Temperatura: La temperatura es un parámetro crucial en la columna del cromatógrafo, tiene un impacto directo en las propiedades de separación de los ácidos grasos volátiles, se deben mantener temperaturas estables para garantizar resultados consistentes.

Cumplir con estas especificaciones, aumenta significativamente la posibilidad de realizar un análisis efectivo de ácidos grasos volátiles mediante un cromatógrafo líquido, permitiendo una detección y separación precisa de los compuestos.

Análisis de AGV por cromatografía líquida

Tomando como referencia la literatura existente del tema, el análisis de ácidos grasos volátiles mediante cromatografía líquida de alto rendimiento, implica una serie de procedimientos generales para manipular la muestra mediante el equipo de cromatografía, lo que garantiza resultados consistentes. El ajuste y medidas de los parámetros depende de la naturaleza de los ácidos grasos volátiles y del equipo de cromatografía líquida.

En primer lugar, se lleva a cabo la extracción de la muestra como se muestra en la Figura 3, donde el AGV debe ser cumplir con las normativas de cromatografía líquida, y ser extraído por una jeringa presurizada sin burbujas de aire. La muestra puede ser sometida a derivatización para mejorar su detección. Además, se eliminan partículas y sedimentos presentes en la muestra, evitando obstrucciones en la columna del cromatógrafo.

Para configurar el sistema de cromatografía líquida, se selecciona un solvente o una mezcla de solventes para operar como fase móvil en el sistema, la elección de la fase móvil depende de la naturaleza de los ácidos grasos volátiles a analizar.

Se selecciona una columna adecuada al tipo de ácido graso, y se ajusta la temperatura del horno que contiene la columna. Además, se configura el detector según las condiciones específicas del ácido graso volátil, realizando ajustes de onda y sensibilidad dependiendo del tipo de detector empleado (UV, RID) como se muestra en la Figura 4. Para finalizar la configuración del equipo, se establecen condiciones de flujo y presión controladas por la bomba, garantizando una separación adecuada en la columna.

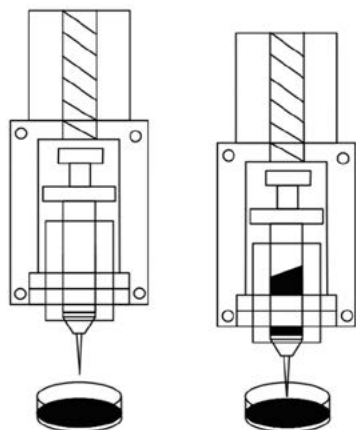


Figura 3. Extracción de muestra por inyector automático.

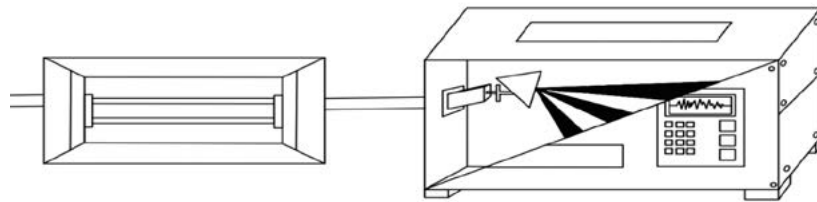


Figura 4. Configuración de columna y detector UV/VIS.

Durante el proceso de inyección, la muestra de AGV se carga en la válvula de inyección mediante un inyector automático, donde la muestra es transportada por una aguja presurizada y colocada automáticamente en la válvula de inyección, evitando generar accesos de aire y asegurando la presurización del sistema de cromatografía. Los dispositivos de inyección automática modernos ofrecen un alto nivel de repetibilidad al suministrar dosis dentro de los sistemas de cromatografía líquida. El volumen de inyección es proporcional al rango lineal del detector y la concentración del ácido graso.

El proceso de cromatografía comienza con el análisis cromatográfico, donde se supervisa la separación de los picos relacionados a los AGV, los cuales quedan registrados en el cromatograma. Utilizando los datos obtenidos, se procede a cuantificar los AVG presentes en la muestra depositada, se comparan los tiempos de retención y las áreas de los picos con los estándares. Mediante el software del sistema de cromatografía, se generan resultados en forma de gráficos de cromatograma y de concentraciones de AGV en la muestra.

Para validar el método empleado, se realiza una calibración empleando estándares conocidos, garantizando precisión y exactitud en los análisis posteriores. Es crucial verificar la reproducibilidad del método mediante repeticiones del análisis utilizando diferentes muestras, pero bajo las mismas condiciones. Después de realizar pruebas pertinentes, se puede determinar el margen de detección y cuantificar el método evaluando su sensibilidad. En última instancia, se documentan detalladamente las pruebas del método, incluyendo las condiciones experimentales, procedimientos de preparación de la muestra y los datos de validación.

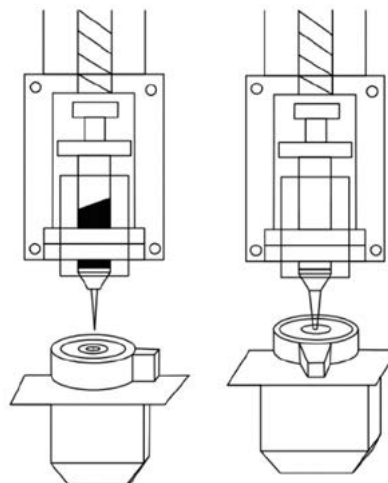


Figura 5. Depósito y carga de muestra en válvula de inyección

Basado en artículos centrados en la producción de biogás mediante digestores anaerobios, es posible estimar el nivel de concentración de los AGV producidos durante la generación de biogás. Se identifican tres tipos distintos de ácidos concentrados; Acético, propiónico y butírico, cada uno en proporciones diferentes. El tiempo de retención hidráulica (TRH) dentro del reactor anaerobio está relacionado con la degradación de los residuos y la concentración de los AGV, Un TRH de 36 horas tiene una concentración aproximada de 200-300 mg/L de ácido acético, 80-100 mg/L de ácido propiónico y 0-20 mg/L de ácido butírico. En cambio, un TRH de 24 horas ofrece una concentración de 226 mg/L de ácido butírico, 99mg/L de ácido propiónico y 50 mg/L de ácido butírico. El mínimo TRH de 12 horas, fue crucial en la degradación de los compuestos, permitiendo ofrecer el máximo nivel de concentración promedio, el ácido acético se incrementó a 706 mg/L, el ácido propiónico a 470 mg/L y el ácido butírico a 100 mg/L aproximadamente.

Se considera que mientras mayor sea el TRH más se consumen los AGV, por lo que se concentrarían en niveles inferiores a comparación de un TRH donde los AGV se concentran en un mayor nivel debido a un menor consumo de ácidos. El empleo de reactores UASB representa una solución ecológica para la transformación de residuos lácteos en biogás, una fuente de energía sostenible, este enfoque permite aprovechar al máximo los materiales residuales de la elaboración de productos lácteos, reduciendo la acumulación de desechos difíciles de tratar por otros medios convencionales.

Al emplear tecnologías avanzadas en el proceso de digestión anaerobia, como la cromatografía líquida, da paso a nuevas técnicas en el tratamiento de residuos, donde convergen diferentes tecnologías aplicadas en diferentes procesos durante la digestión anaerobia, la modernización de ciertos métodos durante los procedimientos, aseguran una calidad superior de biogás, reduciendo márgenes de error variables de medición y calibración en temperatura, tiempo, concentración, volumen, pureza, entre otras cosas.

La cromatografía líquida es una herramienta vital durante el tratamiento de biogás, permite realizar un análisis detallado de la composición del material depositado en el biodigestor, a su vez analiza los AGV resultantes del tratamiento de lactosuero, al realizar mediciones de la concentración de los ácidos habituales en los AGV, permite estudiar el comportamiento del reactor en relación al TRH, buscando el tiempo ideal para una producción de biogás y una concentración de AGV deseados, los resultados de las mediciones de HPLC favorecen en la creación de bitácoras, facilitando el acceso a mediciones pasadas para una futura comparación de resultados.

El empleo de múltiples tecnologías permite ejecutar de forma segura y repetible el proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás, procurando las especificaciones en cada parte del proceso, asegurando la mejor calidad del biogás y concentración de los AGV.

No obstante, aún existen muchas consideraciones dentro del digestor UASB y la HPLC que pueden someterse a nuevas tecnologías, favoreciendo aún más la producción de biogás por medio de lactosuero, la tecnología de redes neuronales crece de manera exponencial, lo que abre un alto margen de aplicación de algoritmos de inteligencia artificial, como trabajo a futuro se considera el empleo de redes neuronales para la captura de datos de medición, generar una base de datos que facilite la comparación de resultados, ajustes de

calibración automática y la supervisión de variables por medio de sensores inteligentes, además de graficar los valores capturados por los sensores como lo son el tratamiento de la muestra y la composición del biogás y los AGV en relación al TRH.

En última instancia, este enfoque representa un futuro más limpio, más verde y más rentable para la producción de biogás a partir del lactosuero, lo que abre la posibilidad del empleo de más residuos contaminantes, además de considerar aplicar las nuevas tecnologías en desarrollo para mejorar y aprovechar los recursos restantes de la fabricación de productos.

