



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN 1.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“BIOCONVERSIÓN FERMENTATIVA ANAEROBIA DE RESIDUOS
AGRÍCOLAS Y GANADEROS UTILIZANDO ORGANISMOS
PROBIÓTICOS (*L. ACIDOPHILUS*, *L. FERMENTUM* Y *BACILLUS
SUBTILIS*) COMO ESTRATEGIA DE ADAPTACIÓN CIENTÍFICA-
TECNOLÓGICA AL CAMBIO CLIMÁTICO”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

DE LA INGENIERÍA

PRESENTA:

M.C.I.Q. DIANA IBETH ROMERO MOTA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS





Orizaba, Veracruz, 13/09/2023
Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación
Asunto: Autorización de Impresión
OPCION: I

C. DIANA IBETH ROMERO MOTA
Candidato a Grado de Doctor en:
CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
PRESENTE.-

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros e Institutos Tecnológicos Federales del Tecnológico Nacional de México, de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"BIOCONVERSIÓN FERMENTATIVA ANAEROBIA DE RESIDUOS AGRÍCOLAS Y GANADEROS UTILIZANDO ORGANISMOS PROBIÓTICOS (L. ACIDOPHILUS, L. FERMENTUM Y BACILLUS SUBTILIS) COMO ESTRATEGIA DE ADAPTACIÓN CIENTÍFICA-TECNOLÓGICA AL CAMBIO CLIMÁTICO"

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA – TÉCNICA - CULTURA®

Cuahtémoc Sánchez R.

DR. CUAHTÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Orizaba, Veracruz, **junio 30, de 2023.**
Asunto: **Revisión de trabajo escrito**

C. CUAUHTÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E.-

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C.

DIANA IBETH ROMERO MOTA

La cual lleva el título de:

"BIOCONVERSIÓN FERMENTATIVA ANAEROBIA DE RESIDUOS AGRÍCOLAS Y GANADEROS UTILIZANDO ORGANISMOS PROBIÓTICOS (L. ACIDOPHILUS, L. FERMENTUM Y BACILLUS SUBTILIS) COMO ESTRATEGIA DE ADAPTACIÓN CIENTÍFICA-TECNOLÓGICA AL CAMBIO CLIMÁTICO"

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®

PRESIDENTE: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS


FIRMA

SECRETARIO: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN


FIRMA

VOCAL: DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO


FIRMA

VOCAL: DR. ALBERTO ALFONSO AGUILAR LASARRE


FIRMA

VOCAL: DR. GUILLERMO CORTÉS ROBLES


FIRMA

VOCAL SUP.: DR. EDUARDO HERNÁNDEZ AGUILAR


FIRMA

TA-09 -18



DEDICATORIAS

Agradezco a Dios por regalarme la vida, sabiduría y fortaleza para ir cumpliendo cada una de las metas que me he propuesto.

A mi hija, Regina ♥, por ser mi más grande motivación para seguir adelante. Por su comprensión, atenciones y apoyo durante este periodo de crecimiento y aprendizaje.

A mis padres, por su amor incondicional y su apoyo en cada decisión que he tomado.

A mis hermanas, por estar en todo momento y querer siempre lo mejor para mí.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Ambiental II: Roger, Joaquín, Itzel China, Mandi, José Manuel, Itzel Rosita, Israel, Cristina. Gracias por compartir sus conocimientos, por su apoyo incondicional, por los buenos momentos y por su amistad.

A todos los que, en su momento, formaron parte del equipo de laboratorio y contribuyeron a la realización de este proyecto, compañeros de servicio, residencias y maestría.

A mis pocos amigos fuera del laboratorio: Macky, Ana, Alonso. Que, a pesar de no frecuentarnos tanto, siempre han estado para escucharme y apoyarme. Los quiero ♥.

A mí, por el esfuerzo, la dedicación, la perseverancia, la diversión. Porque a pesar de las situaciones que se presentaron en estos 4 años, logré concluir mi trabajo de manera satisfactoria. Sin duda, esta ha sido una de las mejores etapas de mi vida.

RECONOCIMIENTOS

Al Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, por brindarme su apoyo y confianza desde mi ingreso a la maestría y posteriormente al doctorado. Por ser mi asesor de tesis una vez más y un pilar en mi formación académica, permitiéndome adquirir nuevos conocimientos en el área de investigación y administración de proyectos.

A quienes conforman mi comité revisor: Dr. Alejandro Alvarado Lassman, Dra. Guadalupe Luna Solano, Dr. Alberto Alfonso Aguilar Laserre, Dr. Guillermo Cortés Robles, Dr. Eduardo Hernández Aguilar. Por sus aportes y observaciones durante la realización del proyecto de investigación.

Al M.C. Joaquín Estrada García por su apoyo incondicional, por su dedicación y contribución a este proyecto. Por su tiempo, por sus consejos y por compartir su conocimiento, pero sobre todo, por su amistad.

Al M.C. Roger Emmanuel Sales Pérez por los consejos y la motivación para concluir este trabajo. Por su apoyo incondicional y por su amistad.

Al Dr. Miguel Josué Heredia Roldán por el apoyo y la atención durante el proceso de titulación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca 608912 para la realización de este trabajo.

Contenido

RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	15
HIPOTESIS.....	16
OBJETIVOS.....	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO.....	17
CAPÍTULO 1 . ANTECEDENTES	18
CAPÍTULO 2 . ESTADO DEL ARTE	21
2.1 Agroindustria	21
2.1.1 Generación de residuos agroindustriales en México.....	21
2.1.2 Impacto ambiental de los residuos agroindustriales.....	28
2.1.3 Tratamiento de residuos agroindustriales.....	29
2.2 Bioconversión anaerobia de residuos	31
2.3 Probióticos en procesos de bioconversión	32
2.3.1 Mecanismos de acción de los probióticos	33
2.3.2 Actividad probiótica en animales.....	34
2.3.3 Bacterias Ácido Lácticas (BAL)	35
2.4 Crecimiento bacteriano.....	38
CAPÍTULO 3 . METODOLOGÍA.....	41
3.1 Metodología Experimental	41
3.2 Obtención y acondicionamiento de residuos agroindustriales.....	42

3.3 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agroindustriales.....	43
3.4 Pre-tratamiento térmico de residuos agroindustriales.....	48
3.5 Obtención y propagación de microorganismos probióticos	48
3.6 Cinéticas de crecimiento de bacterias probióticas	50
3.6.1 Etapa 1: Evaluación de la velocidad de agitación	51
3.6.2 Etapa 2: Evaluación del porcentaje de inóculo	52
3.7 Diseño experimental	53
CAPÍTULO 4 . RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agroindustriales.....	55
4.1.1 Residuos agrícolas.....	55
4.1.2. Residuos ganaderos	58
4.2 Cinéticas de crecimiento de especies probióticas. Etapa 1: evaluación de la velocidad de agitación	59
4.2.1 Bioconversión fermentativa anaerobia con RAC.....	59
4.2.2 Bioconversión fermentativa anaerobia con porcinoza	64
4.2.3 Rendimiento celular y caracterización de biomasas probióticas.....	69
4.2.4 Producción final de biomasas probióticas	71
4.2.5 Análisis de la velocidad de agitación del proceso de bioconversión anaerobia para la obtención de biomasas probióticas.....	72
4.3 Cinéticas de crecimiento de especies probióticas. Etapa 2: evaluación del porcentaje de inóculo	74
4.3.1 Bioconversión fermentativa anaerobia con residuos agrícolas	74
4.3.2 Bioconversión fermentativa anaerobia con residuos ganaderos	86
4.3.3 Obtención de biomasa probiótica durante el proceso de bioconversión anaerobia a partir de residuos agroindustriales.....	96
4.3.4 Producción final de biomasas probióticas	102

4.3.5 Análisis del porcentaje de inóculo en el proceso de bioconversión anaerobia para la obtención de biomasa	103
CONCLUSIONES	108
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
PRODUCTOS ACADÉMICOS	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Producción agrícola de los principales cultivos en México (INEGI, 2017)	22
Figura 2.2 Población de ganado en México (SIAP, 2019)	23
Figura 3.1 Diagrama de bloques de la metodología general	41
Figura 3.2 Diagrama de bloques de la metodología general	41
Figura 4.1 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm	60
Figura 4.2 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm	62
Figura 4.3 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm.....	64
Figura 4.4 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en porcinaza: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm	65
Figura 4.5 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en porcinaza: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm.....	67
Figura 4.6 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en porcinaza: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm.....	68
Figura 4.7 Producción de biomasa probiótica a partir de residuos agroindustriales	72
Figura 4.8 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con RAC	73
Figura 4.9 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con porcinaza	73
Figura 4.10 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	75
Figura 4.11 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	76
Figura 4.12 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	77
Figura 4.13 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	79

Figura 4.14 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	80
Figura 4.15 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	81
Figura 4.16 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	83
Figura 4.17 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	84
Figura 4.18 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	85
Figura 4.19 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	86
Figura 4.20 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	88
Figura 4.21 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	88
Figura 4.22 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	90
Figura 4.23 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	91
Figura 4.24 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	92
Figura 4.25 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. acidophilus</i> en porcinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	93
Figura 4.26 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>L. fermentum</i> en porcinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo.....	95
Figura 4.27 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con <i>B. subtilis</i> en porcinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo	95
Figura 4.28 Producción de biomasa probiótica a partir de residuos agroindustriales	103
Figura 4.29 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con RAC	103

Figura 4.30 Gráfica de efectos principales para biomasa con olote	104
Figura 4.31 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con pergamino.....	105
Figura 4.32 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con pollinaza	105
Figura 4.33 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con residuo bovino.....	106
Figura 4.34 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con porcinaza	107

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1 Tratamientos y aplicaciones de residuos agroindustriales.....	32
Tabla 2.2 Efectos de los probióticos sobre la salud intestinal en animales monogástricos..	34
Tabla 2.3 BAL utilizadas en procesos fermentativos	36
Tabla 3.1 Parámetros de caracterización de los residuos agroindustriales.....	44
Tabla 3.2 Diseño de experimentos para la etapa 1	53
Tabla 3.3 Diseño de experimentos para la etapa 2	54
Tabla 4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agrícolas	57
Tabla 4.2 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos ganaderos.....	57
Tabla 4.3 Parámetros cinéticos del crecimiento <i>L. acidophilus</i> en RAC	61
Tabla 4.4 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>L. fermentum</i> en RAC	63
Tabla 4.5 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>B. subtilis</i> en RAC	64
Tabla 4.6 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>L. acidophilus</i> en porcinaza	66
Tabla 4.7 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>L. fermentum</i> en porcinaza.....	67
Tabla 4.8 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>B. subtilis</i> en porcinaza	69
Tabla 4.9 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con RAC	70
Tabla 4.10 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con porcinaza.....	71
Tabla 4.11 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en RAC	78
Tabla 4.12 Parámetros cinéticos del crecimiento de <i>L. acidophilus</i> en olote.....	79

Tabla 4.13 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en pergamino	85
Tabla 4.14 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en pollinaza.....	89
Tabla 4.15 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en residuo de origen bovino.....	92
Tabla 4.16 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en porcinaza.....	96
Tabla 4.17 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con RAC.....	97
Tabla 4.18 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con olote.....	98
Tabla 4.19 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con pergamino.....	99
Tabla 4.20 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con pollinaza.....	100
Tabla 4.21 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con residuo bovino.....	101
Tabla 4.22 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con porcinaza.....	102

NOMENCLATURA

Símbolo	Descripción	Unidades
<i>AL</i>	Ácido Láctico	g/L
<i>BAL</i>	Bacterias Ácido Lácticas	-
<i>f_{ccc}</i>	Factor de la cámara de conteo Neubauer	-
<i>f_d</i>	Factor de dilución	-
<i>GEI</i>	Gases de Efecto Invernadero	-
<i>GRAS</i>	Generalmente Reconocidos como Seguros	-
<i>K_s</i>	Constante de saturación	g/L
<i>NMP</i>	Número Más Probable	-
<i>ST</i>	Sólidos Totales	%
<i>STV</i>	Sólidos Totales Volátiles	%
<i>UFC</i>	Unidades Formadoras de Colonias	-
<i>Y_{X/S}</i>	Rendimiento celular	gX/gS
<i>Y_{P/S}</i>	Rendimiento del producto obtenido	gP/gS
Letras griegas		
λ	Tiempo de lag o acondicionamiento bacteriano	<i>h</i>
μ_{max}	Velocidad máxima de crecimiento	h^{-1}

RESUMEN

Se realizó un proceso de bioconversión fermentativa anaerobia de residuos agroindustriales (residuos agrocañeros, residuo de maíz blanco, residuo de café, pollinaza, residuo bovino y porcínaza) utilizando organismos probióticos (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*), para la obtención de biomasa nutritiva y como estrategia de manejo de los residuos agrícolas y ganaderos. El proceso de bioconversión se evaluó en dos etapas para determinar las condiciones de operación recomendables a partir de un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas y sin aleatoriedad. En la primera etapa se evaluó la influencia de la velocidad de agitación (100, 150 y 200 rpm) durante el desarrollo poblacional de las especies probióticas en residuos agroindustriales, a partir de la cual se determinó que a 100 rpm se obtienen mejores rendimientos de biomasa (0.18-0.20 gX/gS). En la segunda etapa se evaluó la influencia del porcentaje de inóculo durante el desarrollo poblacional de las especies probióticas en los residuos agroindustriales, a partir de la cual se obtuvo que para residuos agrocañeros debe emplearse *B. subtilis* al 15%, para el residuo de maíz blanco se debe utilizar *L. acidophilus* al 15%, para el residuo de café se sugiere la especie *B. subtilis* al 15%, para la pollinaza se recomienda *L. fermentum* al 10%, para el residuo bovino se debe usar *L. fermentum* al 5% y en el caso de la porcínaza se debe emplear *L. acidophilus* al 15%. Bajo estas condiciones se determinó que las especies probióticas pueden aprovechar de manera adecuada los residuos agroindustriales evaluados y obtener mayor rendimiento de biomasa celular.

Al finalizar los procesos de bioconversión fermentativa anaerobia, se obtuvieron biomasa, las cuales fueron evaluadas en contenido de carbohidratos, proteínas y concentración celular, encontrando de manera general, que los carbohidratos disminuyeron respecto a la concentración inicial de cada residuo, el contenido de proteínas aumentó considerablemente y, además, la biomasa final presentó una concentración celular probiótica. Por lo cual se sugiere que las biomasa finales pueden ser empleadas como fuente de proteína en la alimentación del sector ganadero.

Palabras Clave: bioconversión, residuos agroindustriales, probióticos, biomasa nutritiva.

ABSTRACT

An anaerobic fermentative bioconversion process of agro-industrial residues (agro-sugarcane waste, white corn residue, coffee residue, poultry manure, bovine residue and pig manure) was carried out using probiotics (*L. acidophilus*, *L. fermentum* and *B. subtilis*) to obtain nutritious biomasses and as a management strategy for agricultural and livestock residues. The bioconversion process was evaluated in two stages to determine the recommended operating conditions from a 3² factorial design with 3 replicates and without randomness. In the first stage, the influence of the excitation speed (100, 150 and 200 rpm) was evaluated during the population development of the probiotic species in agro-industrial residues, from which it will be extended that better biomass yields will be obtained at 100 rpm. (0.18-0.20 gX/gS). In the second stage, the influence of the percentage of inoculum during the population development of the probiotic species in the agro-industrial residues was evaluated, from which it was determined that for agricultural residues, *B. subtilis* should be used at 15% for the maize residue. White, 15% *L. acidophilus* should be used, for the coffee residue the species *B. subtilis* is suggested at 15%, for poultry manure 10% *L. fermentum* is recommended, for the bovine residue, 5% *L. fermentum* should be used and in the case of pig manure, 15% *L. acidophilus* should be used. Under these conditions, it is limited that the probiotic species can adequately take advantage of the agro-industrial residues evaluated and obtain a higher yield of cell biomass.

At the end of the aerobic fermentative bioconversion processes, biomasses were obtained, which were evaluated for carbohydrate, protein and cell concentration content, generally finding that carbohydrates increased with respect to the initial concentration of each residue, protein content with great and, in addition, the final biomass presented a probiotic cell concentration. Therefore, it is suggested that the final biomasses can be used as a source of protein in feeding the livestock sector.

Keywords: bioconversion, agroindustrial residues, probiotics, nutritive biomasses.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población mundial y el desarrollo económico han provocado que la demanda de alimentos sea cada vez mayor y los productos del sector ganadero se vuelvan básicos en todo el mundo (Giraldi-Díaz *et al.* 2021). Como resultado de este aumento se generan anualmente grandes cantidades de desechos de alimentos agroindustriales de granjas domésticas y comerciales, así como de industrias de procesamiento de alimentos (Sadh *et al.*, 2018). Las pocas alternativas, desde el punto de vista económico, social y nutricional, que en la actualidad se presentan para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales, aunado a la falta de conciencia en la protección del medio ambiente provocan que estos sean mal manejados y se conviertan en fuentes de contaminación de los recursos naturales; suelo, agua y aire. Por ello, surge la necesidad de conversión de los mismos en un producto útil y de mayor valor agregado, que además de solucionar un problema, genere ingresos económicos adicionales; de ahí la importancia del estudio de alternativas tecnológicas tendientes al aprovechamiento de los residuos agroindustriales (Cury-R *et al.*, 2017).

Los procesos de fermentación microbiana, pueden aplicarse como una estrategia en la bioeconomía circular, ya que, durante la fermentación, los microorganismos obtienen fuentes de carbono y energía a partir de los sustratos orgánicos y eventualmente, convierten los desechos agroindustriales en productos útiles de valor agregado, como enzimas, aditivos alimentarios, biofertilizantes, biocombustibles, alimentos para animales, entre otros (Yafetto, 2022; Yazid *et al.*, 2017). El uso de probióticos es una opción atractiva, ya que, puede transformar desechos de diferentes fuentes, en biomásas nutritivas y ácido láctico (AL) (Estrada-García *et al.* 2023; Sánchez-Valeriano *et al.* 2022a).

Por lo cual, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el proceso de la bioconversión fermentativa anaerobia en presencia de organismos probióticos (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *Bacillus subtilis*) a partir de residuos agrícolas (residuos agrocañeros, olote de maíz blanco, pergamino de café) y ganaderos (pollinaza, residuo bovino y porcínaza) como estrategia de manejo de dichos residuos y para la obtención de biomásas nutritivas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, los residuos generados del procesamiento de alimentos derivados de la industria azucarera, agricultura, pesca, industria animal y fabricación de bebidas son considerados sectores contaminadores potenciales del medio ambiente (Hernández-Cázares *et al.*, 2016), ya que, la mayoría de los desechos agroindustriales no son tratados y están subutilizados, por lo tanto, se eliminan mediante quema, vertido o vertido no planificado. Estos desechos no tratados crean diferentes problemas con el cambio climático al aumentar el número de gases de efecto invernadero. Además de esto, el uso de combustibles fósiles también contribuye al efecto sobre la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) (Sadh *et al.*, 2018).

Aproximadamente 76 millones de toneladas de desechos orgánicos se generan anualmente en México, de los cuales el 79% son desechos primarios (durante la cosecha) como hojas y tallos de maíz, tapas y hojas de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y frijol, entre otros. El 21% restante son residuos secundarios obtenidos del procesamiento posterior a la cosecha, entre los que se encuentran: bagazo de caña de azúcar, mazorcas de maíz y mazorcas, bagazo de maguey o agave, así como pulpa de café (Carrillo-Nieves *et al.*, 2019). El aprovechamiento de estos residuos o subproductos, no solo contribuye a disminuir la explotación de recursos sino también la contaminación y degradación del ecosistema, evitando una disposición final inadecuada como es el caso de las quemas, el uso en rellenos sanitarios o el vertimiento a fuentes hídricas (Peñaranda *et al.*, 2017).

La producción animal es una fuente importante de (GEI) en todo el mundo. Dependiendo del enfoque utilizado para la cuantificación y del tipo de emisiones estudiadas, diferentes instituciones (IPCC, FAO, EPA y otras) han calculado que la contribución del ganado a las emisiones mundiales de los GEI antropogénico representan entre el 7 y 18% de las emisiones totales, aparte de ser un importante usuario de recursos naturales (Hristov *et al.*, 2013). La producción de carne de vacuno y leche representa la mayoría de las emisiones, contribuyendo respectivamente con el 41 y 29% de las emisiones del sector. Mientras que la carne de cerdo y la carne de ave contribuyen, respectivamente, un 9 y 8% a las emisiones del sector.

Los residuos orgánicos agrícolas y los residuos sólidos orgánicos ganaderos, representan una materia prima de gran potencial en la obtención de biomásas nutritivas, debido a que son sustratos que pueden adquirirse a bajo costo y contienen cantidades significativas de los nutrientes requeridos para la propagación de los microorganismos probióticos.

El objetivo de esta investigación consiste en aprovechar los residuos agroindustriales para obtener un producto sustentable: biomásas nutritivas a partir de la bioconversión fermentativa anaerobia utilizando bacterias probióticas, con la finalidad de establecer una estrategia de adaptación científica-tecnológica al cambio climático.

JUSTIFICACIÓN

El aumento de contaminantes impulsados por la agricultura, especialmente la cría de animales, tiene consecuencias en cascada para el medio ambiente y la salud humana, incluida la degradación de la calidad del aire y del agua y también un aumento de las presiones de las enfermedades y plagas. En las últimas décadas, el consumo anual de carne per cápita casi se ha duplicado (Li *et al.*, 2016). El estiércol animal es uno de los principales desechos en muchos países agrícolas debido a su industria de cría de animales intensiva, y se ha convertido en un gran desafío que debe ser tratado adecuadamente. El aumento y la concentración de los desechos animales generan problemas de olor y contienen patógenos que amenazan la salud de las personas si no se maneja adecuadamente. Además, contienen nutrientes y metales pesados que afectan la calidad de las aguas superficiales y subterráneas si se descargan directamente (Tao *et al.*, 2017). Uno de los principales desechos agrícolas, se generan durante la producción de la caña de azúcar, pues durante el proceso de producción genera por tonelada de tallos 250 kg de bagazo, 30 kg de cachaza, 6 kg de cenizas, 45 kg de melaza; además, por cada L de alcohol producido, se genera hasta 15 L de vinaza (Peñaranda-González *et al.*, 2017).

Por lo anterior, es importante resaltar la oportunidad que los residuos agroindustriales representan, ya que son una fuente de biomasa con gran potencial energético y que pueden ser aprovechados mediante procesos de bioconversión. La valorización de residuos sólidos agroindustriales es una opción emergente debido a que, su elevado contenido de materia orgánica y nutrientes pueden ser utilizados para reducir los impactos relacionados con su manejo integral (Borges *et al.*, 2020). La obtención de biomasas nutritivas a través de la bioconversión fermentativa anaerobia de residuos orgánicos agrícolas y ganaderos, es una solución atractiva económicamente, de bajo costo y abundante materia prima, simplicidad del proceso y cuidado del medio ambiente. Por lo anterior, este proyecto tiene un triple propósito: aprovechar desechos de alto valor biológico como son los residuos agrícolas y ganaderos; obtener un producto útil, como lo son las biomasas nutritivas, y establecer una estrategia de adaptación científica-tecnológica al cambio climático.

HIPOTESIS

Es posible obtener biomásas nutritivas a partir del aprovechamiento de residuos agrícolas y ganaderos en el proceso de bioconversión fermentativa anaerobia utilizando organismos probióticos (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*). Además, se lograrán definir las condiciones de operación recomendables para el proceso de bioconversión y esto permitirá desarrollar una estrategia de adaptación científica-tecnológica al cambio climático.

OBJETIVOS

Desarrollar estrategias de manejo integral de residuos agrícolas y ganaderos mediante su bioconversión a biomásas nutritivas utilizando organismos probióticos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de los residuos orgánicos agrícolas: caña de azúcar, maíz blanco y café.
2. Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de los residuos sólidos orgánicos ganaderos: avícola, bovino y porcino.
3. Definir las condiciones recomendables de operación para la bioconversión fermentativa anaerobia de los residuos agrícolas y ganaderos.
4. Evaluar la calidad química y microbiológica de la biomasa obtenida durante la fermentación anaerobia, así como su rendimiento.
5. Desarrollar las estrategias de manejo de los residuos orgánicos agrícolas y ganaderos.

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO

- Cinéticas del desarrollo poblacional de microorganismos probióticos (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. Subtilis*) utilizando como sustrato residuos agrícolas (residuos agrocañeros, olote de maíz blanco, pergamino de café) y ganaderos (pollinaza, residuo bovino, porcinaza).
- Condiciones recomendables de operación para la bioconversión fermentativa anaerobia de los residuos agrícolas y ganaderos.
- Rendimientos de biomásas probióticas obtenidas a partir del proceso de bioconversión anaerobia.
- Desarrollo de una estrategia de adaptación científica-tecnológica al cambio climático.

CAPÍTULO 1 . ANTECEDENTES

Estrada-García et al. (2023) evaluaron el comportamiento reológico del proceso de biotransformación de residuos porcinos para producir ácido láctico (LA) y biomasa con *L. acidophilus* en un reactor agitado. Midiendo el crecimiento celular, el consumo de carbohidratos y la producción de LA a tres velocidades de agitación diferentes, 100, 150 y 200 rpm a 37 °C, con un tiempo de reacción de 52 h. Los resultados sugieren que el intercambio de masa es favorable a bajas velocidades de agitación. Sin embargo, la presencia de melazas ricas en carbohidratos como fuente de carbono modifican las características del fluido, dilatante ($n > 1$) al inicio del proceso para terminar pseudoplástico ($n < 1$) por la adición de exopolisacáridos y la modificación de la estructura física del sustrato.

P. Zhang et al. (2021) evaluaron el potencial de los inmunocitos para albergar el sistema respiratorio después de la administración oral de *Bacillus subtilis*. Los resultados mostraron que *B. subtilis* podría promover el desarrollo intestinal y no causar cambios patológicos en el tracto respiratorio. Después de la administración oral con *B. subtilis*, el número de células secretoras de IgA y células T CD3+ no solo aumentó significativamente en el tracto intestinal sino también en el tracto respiratorio. Además, los niveles de IgA secretora fueron significativamente más altos en la tráquea, pulmones, íleon y yeyuno después de la administración oral de *B. subtilis* que en los grupos de control. Estos datos sugieren que la administración de *B. subtilis* regula la respuesta inmune no solo en el intestino sino también en el tracto respiratorio de los lechones.

Rocafuerte et al. (2022) realizaron un proceso fermentativo a partir de residuos de café en presencia de *B. subtilis*, evaluando la producción de ácido láctico, el consumo de sustratos y la generación de biomasa, variando la concentración de inóculo. Los mejores resultados se obtuvieron al cabo de 72 h utilizando un inóculo de 15% de *B. subtilis*. Bajo estas condiciones, los carbohidratos disminuyeron de 27.12 a 4.21 g/L, se obtuvieron 4.75 g/L de ácido láctico y se generó una concentración de 3.44 g/L de biomasa.

Sánchez-Valeriano et al. (2022a) determinaron los parámetros cinéticos de biotransformación de residuos de maíz a través de la acción fermentativa de la bacteria *L. acidophilus*. Evaluaron diferentes concentraciones de la especie probiótica y determinaron que al utilizar 15% de inóculo de *L. acidophilus*, los microorganismos se adaptaron mejor al sustrato, obteniendo una $K_s = 0.57$ g/L y un tiempo de adaptación de 18.25 h. Mencionan que, al evaluar el consumo de sustrato, identificaron que el uso del inóculo al 10% fue mejor, ya que presentó una $k = 0.2534$ g/L.

Sánchez-Valeriano et al. (2022b) evaluaron la generación de biomasa y ácido láctico a partir de residuos de maíz blanco (*Zea Mays L.*) mediante fermentación anaerobia con la especie *L. acidophilus*, encontrando que a mayor concentración de inóculo se produce mayor cantidad de biomasa, ya que al utilizar 15% v/v de *L. acidophilus* se incrementó en un 47.28% la biomasa con un valor inicial de 16.24 g/L y finalizando en 30.81 g/L, con un contenido de $0.43 \pm 0.09\%$ N, $2.68 \pm 0.58\%$ Proteínas, 10.65 ± 0.18 g/L de carbohidratos y una producción de ácido láctico de 6.76 g/L.

Shanmugasundaram et al. (2020) determinaron los efectos de la suplementación probiótica de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* sobre el rendimiento y la carga cecal de *Salmonella* en pollos de engorde desafiados con *Salmonella enterica serovar enteritidis*. Encontraron que las aves en el grupo de desafío probiótico + tuvieron una disminución logarítmica de 0.73, 1.59 y 1.32 en *Salmonella* UFC/g de contenido cecal a los 5, 12 y 21 días después de la infección por *Salmonella*, en comparación con el grupo de desafío. Concluyeron que los probióticos *B. subtilis* y *B. Licheniformis* pueden ser una herramienta para disminuir las cargas de *Salmonella* en el tracto gastrointestinal de los pollos de engorde.

Sunu et al., (2021) evaluaron el potencial simbiótico del ajo combinado con *Lactobacillus acidophilus* para pollos de engorde. Realizaron un diseño aleatorio completo con 3 tratamientos y 8 réplicas y cada réplica se llenó con 6 pollos de engorde de 7 días con un peso vivo de 218,5 g. Los tratamientos fueron simbióticos de ajo y *Lactobacillus acidophilus*, preparación simbiótica de ajo en forma de extracto (2 ml, 4 ml), colocaron 100 ml de

proporción de ajo y 1 ml de *Lactobacillus acidophilus* con la concentración de 10^8 UFC. Los parámetros observados fueron aumento de peso corporal, pH, tasa de digestión, inmunidad de órganos, perfil sanguíneo, MDA, SOD y microflora intestinal. Los resultados mostraron que el tratamiento simbiótico mejoró significativamente ($P < 0.05$) el rendimiento, la digestibilidad de nutrientes, el perfil sanguíneo, los antioxidantes y la salud intestinal. La adición de simbióticos entre el extracto de ajo y *Lactobacillus acidophilus* con un nivel de 4 ml mejora el rendimiento, la salud intestinal, los antioxidantes y la digestión de nutrientes en pollos de engorde.

Zhao et al. (2019) realizaron una revisión sobre las propiedades inmunomoduladoras y los mecanismos reguladores de *L. fermentum* identificados en células inmunes aisladas, modelos animales y el cuerpo humano en estudios recientes. Encontraron que el bajo pH en el estómago y la alta concentración de sales biliares en el intestino del huésped son dos barreras efectivas que evitan que los probióticos sobrevivan en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, las cepas de *L. fermentum* mostraron una excelente tolerancia a valores de pH bajos en comparación con la mayoría de las especies de *Lactobacillus* (*L. jensenii*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*), con una tasa de supervivencia de más del 90 por ciento a pH 4 durante 3 horas y altas concentraciones de sales biliares cuya tasa de supervivencia se asoció con el tiempo de tolerancia y el pH.

CAPÍTULO 2 . ESTADO DEL ARTE

2.1 Agroindustria

La agroindustria es una actividad que integra la producción primaria agrícola, pecuaria y forestal, sin descuidar los aspectos de administración, mercadotecnia y financiamiento; es una actividad económica que combina el proceso productivo agrícola con el industrial para generar alimentos o materias primas semielaboradas destinadas al mercado (Cury-R. *et al.*, 2017). Como resultado adicional a las actividades principales de las empresas que conforman el sector agroindustrial, se generan subproductos o residuos agroindustriales que representan cantidades significativas y son considerados un problema ambiental (Vargas-Corredor & Pérez-Pérez, 2018). Actualmente, este sector es reconocido no solo por su producción e impacto económico mundial, sino también por los procesos que se implementan para disminuir el impacto ambiental que generan sus residuos; por tanto, su permanencia y oportunidades en el mercado no dependen solamente de reglamentaciones sujetas a sanciones sino también de su relación con el medio ambiente (Peñaranda-González *et al.*, 2017).

2.1.1 Generación de residuos agroindustriales en México

En México, los residuos generados del procesamiento de alimentos derivados de la industria azucarera, agricultura, pesca, industria animal y fabricación de bebidas son considerados sectores contaminadores potenciales del medio ambiente (Hernández-Cázares *et al.*, 2016).

A nivel mundial, México se coloca en el 11° lugar de producción agrícola y pecuaria y en 3^{er} lugar en América Latina. Entre los cultivos que cuentan con mayor superficie sembrada en México, se encuentran el maíz de grano blanco (6 947 000.00 Ha), el sorgo (2 175 009 Ha), la caña de azúcar (824 747.50 Ha), el café (834 389.00 Ha) y la naranja (395 849 Ha). En la Figura 2.1, se muestra la producción de los cultivos más importantes de nuestro país, entre los que destacan la caña de azúcar (56 354 945.10 Ton), el maíz de grano blanco (23 142 203.00 Ton) y el café (858 039.00 Ton). Estos tres cultivos representan el 45% del total de hectáreas sembradas y el 74% de la producción agrícola en México (INEGI, 2017).

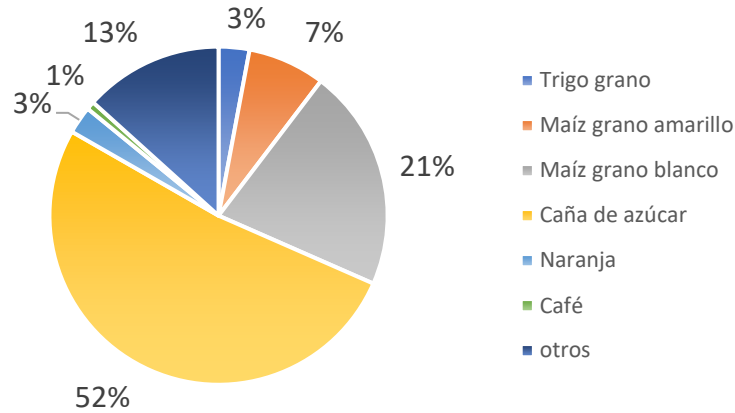


Figura 2.1 Producción agrícola de los principales cultivos en México (INEGI, 2017)

Aproximadamente 76 millones de toneladas de desechos orgánicos se generan anualmente en México, de los cuales el 79% son desechos primarios (durante la cosecha) como hojas y tallos de maíz, tapas y hojas de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y frijol, entre otros. El 21% restante son residuos secundarios obtenidos del procesamiento posterior a la cosecha, entre los que se encuentran: bagazo de caña de azúcar, mazorcas de maíz, bagazo de maguey o agave, así como pulpa de café (Carrillo-Nieves *et al.*, 2019). El aprovechamiento de estos residuos o subproductos, no solo contribuye a disminuir la explotación de recursos sino también la contaminación y degradación del ecosistema, evitando una disposición final inadecuada como es el caso de las quemadas, el uso en rellenos sanitarios o el vertimiento a fuentes hídricas (Peñaranda-González *et al.*, 2017).

Actualmente, el aumento de la población mundial y el desarrollo económico ha provocado que la demanda de alimentos sea mayor y los productos del sector ganadero se vuelvan básicos en todo el mundo (Giraldi-Díaz *et al.* 2021). En la Figura 2.2 se muestran los porcentajes correspondientes a la población ganadera que existe en nuestro país, entre los que se encuentran las aves (580 828 889), bovinos (35 224 960) y porcinos (18 365 289), la población ganadera se reporta en número de cabezas. Estas tres especies, representan el 97% del total de cabezas de ganado que existen en México y prácticamente el 100% de la producción pecuaria nacional (SIAP, 2019).

Se sabe que los residuos de este sector provocan aproximadamente el 10% de los gases de efecto invernadero (GEI) a nivel mundial (USDA 2021), por lo cual, se han aplicado algunas tecnologías que puedan mitigar o reducir los efectos de los GEI ya que se consideran cuestiones sociales, económicas y ambientales (Khoshnevisan *et al.* 2021)

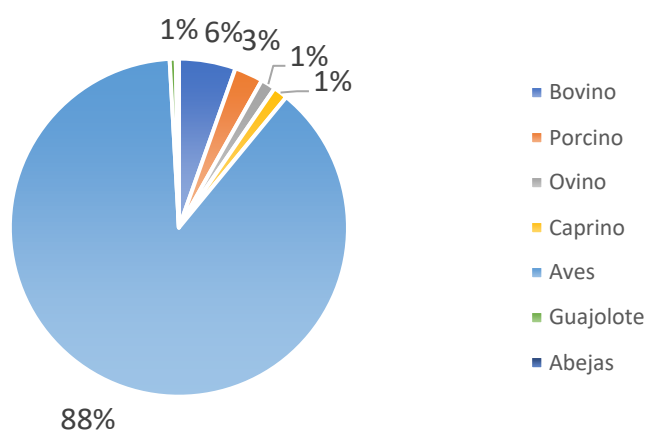


Figura 2.2 Población de ganado en México (SIAP, 2019)

Residuos agrícolas

Caña de azúcar (Saccharum Officinarum)

La caña de azúcar es una planta semiperenne de la familia de las gramíneas, originaria de las regiones templadas tropicales y cálidas de Asia. Su principal característica es la producción de azúcares (principalmente sacarosa, glucosa y fructosa), concentrándose en su culmo. La parte aérea de la planta se compone de tallo, hojas verdes y hojas secas. La parte superior de la planta tiene mayor humedad y la inferior menor, con hojas secas (o muertas). La planta tiene aproximadamente un 57% de agua en su composición de masa, el resto se divide entre paja, bagazo y azúcar (De Matos *et al.*, 2020).

México es el séptimo mayor productor de azúcar del mundo y consume 47 kg per cápita en forma cruda. La caña de azúcar como materia prima es cultivada por 184,000 cultivadores en 227 municipios en 15 de los 32 estados de México, cubriendo más de 777,078 ha. Esto coloca a la caña de azúcar como el segundo producto agrícola más valioso del país, solo precedida por el maíz en grano. Asimismo, la caña de azúcar constituye uno de los 10 cultivos

más importantes, cubriendo el 3.9% del área total cosechada en el ciclo agrícola anual (Aguilar-Rivera *et al.*, 2018). La industria de la caña de azúcar y sus derivados, además de generar vertimientos de residuos materiales y energéticos, participa en la emisión de residuos a la atmósfera producto de la combustión del bagazo de caña (5,5 kg de cenizas volátiles por tonelada de caña procesada, aproximadamente), los combustibles empleados en el proceso y los vapores de fermentación y de las unidades de sulfitación (para el refinado del azúcar), lo que aumenta la contaminación atmosférica (Vargas-Corredor & Pérez-Pérez, 2018). La caña de azúcar es utilizada mayoritariamente para la producción de azúcar y alcohol carburante. Durante el proceso de producción genera por tonelada de tallos 250 kg de bagazo, 30 kg de cachaza, 6 kg de cenizas, 45 kg de melaza; además, por cada L de alcohol producido, se genera hasta 15 L de vinaza (Cury-R *et al.*, 2017). Los residuos de la caña han sido utilizados en múltiples ramas como alimento para la producción animal, materia prima para la producción de etanol, combustible, celulosa, papel y compost, entre otros (Peñaranda-González *et al.*, 2017; Aguilar-Rivera, 2018).

Maíz blanco (*Zea Mays L.*)

La planta de maíz es una estructura frondosa alta con un sistema de raíces fibrosas, que sostiene un solo brote con muchas hojas y una rama lateral terminada por una inflorescencia femenina, que se convierte en una mazorca cubierta por hojas de cáscara. El tamaño de la planta, la duración del período de crecimiento y el potencial de rendimiento varían de manera importante, dependiendo de la región de producción. (García-Lara & Serna-Saldivar, 2019). El maíz es el cultivo más importante de México por su importancia económica, social y cultural. Con un consumo promedio per cápita al año de 196.4 Kg de maíz blanco, especialmente en tortillas. La producción de maíz grano se divide en blanco y amarillo. El maíz blanco representa 86.94 % de la producción y se destina principalmente al consumo humano. Esa producción satisface la totalidad del consumo nacional (SAGARPA, 2017).

El maíz tiene un gran valor e importancia económica en todo el mundo, no solo como alimento humano, sino también como alimento para animales y como materia prima para una gran cantidad de productos industriales y biocombustibles (García-Lara & Serna-Saldivar, 2019). La producción anual mundial de maíz es de aproximadamente mil millones de

toneladas en la actualidad, con un índice de cosecha que oscila entre el 47% y el 56%, aproximadamente la mitad del peso de la parte aérea de la planta de maíz es rastrojo. Por tanto, el rastrojo de maíz se produce a una tasa de 1 kg seco por kg seco de grano de maíz, por lo que la producción mundial de rastrojo de maíz es de alrededor de mil millones de toneladas (Ruan *et al.*, 2019). Estos residuos pueden ser utilizados en diferentes procesos como en la obtención de fibra para alimentación animal y producción de etanol o para la cobertura del suelo con el fin de protegerlo de las condiciones ambientales (Peñaranda-González *et al.*, 2017).

Café (*Coffea arabica*)

Se le conoce como café, al género de los árboles de la familia de las rubiáceas, a sus semillas y a la bebida preparada con las mismas. La altura del arbusto de café arábico varía entre 4 y 6 m. En la madurez tiene hojas aovadas, lustrosas y verdes que se mantienen durante tres a cinco años. Sus flores son blancas y fragantes y permanecen abiertas pocos días. Seis o siete meses después de que aparece la flor se desarrolla el fruto. Al fruto se le dice cereza, uva o capulín y está recubierto por una cascarilla muy delgada que se llama pergamino (SAGARPA, 2017). El café es considerado uno de los productos más importantes a nivel mundial, teniendo en cuenta que cerca de 80 países de Latinoamérica, Asia y África lo cultivan (Peñaranda-González *et al.*, 2017). México es el 9° productor de café mundialmente con una producción de 4.7 millones de sacos de 60 kg producidos durante el periodo de octubre de 2019 a septiembre de 2020 (ICO, 2020). El principal productor es el estado de Chiapas, entidad que aporta el 39% del volumen nacional, seguido de Veracruz con el 30% y Oaxaca con el 13% (CEDRSSA, 2018).

Durante la producción de café en polvo, la única parte que se utiliza es el grano, y todas las demás partes, conocidas como subproductos, se descartan y pueden contaminar el medio ambiente. Por tanto, más del 50% de los frutos del café se descartan cuando podrían tener un uso potencial en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética (Alves *et al.*, 2017; Mendes dos Santos *et al.*, 2021). La piel, pulpa, mucílago, pergamino, piel plateada y también granos de café inmaduros y defectuosos son subproductos generados durante la producción agrícola y el procesamiento agroindustrial (Heeger *et al.*, 2017), que pueden afectar los

sectores económico, ambiental y social, y contribuyen a las emisiones de GEI (Torres-León *et al.*, 2018). La utilización de los residuos de café es relevante, no únicamente por razones medioambientales, sino por el posible destino práctico de la biomasa lignocelulósica como materia prima para la fabricación de biocombustibles, fibras o productos químicos industriales (Reis *et al.*, 2020). Los residuos del café contienen varios compuestos orgánicos como ácidos grasos, lignina, celulosa, hemicelulosa y otros polisacáridos que justifican su volatilización (Tangmankongworakoon, 2019).

Residuos ganaderos

Residuo avícola

México es uno de los países productores de aves de corral más grandes del mundo. En 2019, fue el cuarto país en producción de huevos y el sexto en producción de carne de pollo. Para el mismo año, la industria avícola comercial mexicana representó el 64% de la ganadería nacional (Ornelas-Eusebio *et al.*, 2020). La industria avícola es la actividad pecuaria más dinámica y uno de los sectores estratégicos para la alimentación. Los modelos económicos sugieren que para el 2024 la avicultura mexicana producirá al menos 74% de la oferta total de proteína animal (SAGARPA & SENASICA, 2016).

Este sector genera una gran cantidad de basura, que consiste en una mezcla de estiércol, residuos de cama, desecho de comida y plumas. La cantidad de desperdicios de aves de corral generadas por ave, durante el ciclo de producción varía de 1.5 a 5.7 / kg de hojarasca / ave (Jeswani *et al.*, 2019). El estiércol avícola es rico en nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), sin embargo, el uso de estiércol avícola en la agricultura, sin un tratamiento adecuado, puede causar serios problemas ambientales tales como eutrofización, lixiviación de nitratos a aguas subterráneas, contaminación del aire y propagación de patógenos (Rubezius *et al.*, 2020). La producción en constante crecimiento de carne de aves de corral y estiércol asociado hace que sea esencial identificar prácticas de tratamiento para el estiércol que conduzcan a bajas emisiones de GEI (Kreidenweis *et al.*, 2021).

Residuo bovino

De acuerdo con el reporte *Perspectivas Agrícolas 2016-2025* de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se proyecta que la producción mundial de carne de bovino crezca a una tasa promedio anual de 1.3% entre 2017 y 2025, para ubicarse en 77.8 millones de toneladas (9.5 millones de toneladas más que el promedio de 2013-2016) (FIRA, 2017).

La producción promedio diaria de excrementos de ganado bovino es de más de 60 kg por vaca en una granja lechera. Esta situación ha suscitado muchas preocupaciones para deshacerse del estiércol de ganado sin cargas ambientales (Lee *et al.*, 2018). El estiércol de ganado puede terminar como purín, que combina excrementos producidos por el ganado con agua de lluvia y agua de lavado y, en algunos casos, desechos de cama y alimento. Tradicionalmente, los purines y el estiércol sólido se han esparcido directamente sobre la tierra como fertilizantes. Sin embargo, estas pueden ser fuentes potenciales de contaminación del aire y del agua. La contaminación del aire se atribuye al gas amoníaco liberado a la atmósfera por el estiércol esparcido por la tierra y almacenado en los edificios ganaderos (Font-Palma, 2019).

Residuo porcícola

La producción de carne de cerdo en México alcanzó 1.7 millones de toneladas en 2019, con 1.5% de la producción mundial de 2020 y una tasa de crecimiento nacional de 3.8% anual (INEGI 2020). Estudios en granjas de cerdos a pequeña escala indicaron la generación de aproximadamente 1300 toneladas de aguas residuales por año por granja de cerdos, que incluyen estiércol, orina y aguas residuales de lavado (Nagarajan *et al.*, 2019). Estas aguas residuales, contienen altas concentraciones de materia orgánica, nitrógeno y fósforo, lo que representa una grave amenaza para el medio ambiente ecológico, incluida la eutrofización del agua, la contaminación del aire por volatilización del amoníaco y la degradación del suelo (Luo *et al.*, 2019).

La producción masiva de estiércol porcino es una fuente importante de GEI que representa el 18% de las emisiones totales de la industria ganadera a nivel mundial (Pexas *et al.* 2020), debe tratarse de manera efectiva para evitar problemas de olor y presencia de microorganismos patógenos que amenazan la salud humana y animal (Cheng *et al.* 2020). Este residuo contiene nutrientes y metales pesados que afectan la calidad de las aguas superficiales y subterráneas si se descargan directamente (Dadrasnia *et al.* 2021; Tao *et al.* 2017).

2.1.2 Impacto ambiental de los residuos agroindustriales

El INNEC (2018), reporta a través del Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero 1990-2015, que nuestro país emitió 683 millones de toneladas de bióxido de carbono equivalente (MtCO_{2e}) de gases de efecto invernadero. El inventario comprende las emisiones de bióxido de carbono, metano, óxido nitroso, hidrofluorocarbonos, perfluorocarbonos, hexafluoruro de azufre y carbono negro en el periodo 1990-2015. El gas más relevante que emite nuestro país es el bióxido de carbono con 71% de las emisiones, seguido del metano con 21%. Del total de las emisiones, 64% correspondieron al consumo de combustibles fósiles; 10% se originaron por los sistemas de producción pecuaria; 8% provinieron de los procesos industriales; 7% se emitieron por el manejo de residuos; 6% por las emisiones fugitivas por extracción de petróleo, gas y minerías y 5% se generaron por actividades agrícolas. Entre 1990 y el 2015 las emisiones de México aumentaron un 54%, con una tasa de crecimiento anual (TCMA) de 1.7%.

Los impactos ambientales asociados con el sector ganadero son particularmente relevantes debido a la creciente demanda de alimentos de origen animal: en 2050, se espera que el consumo de carne y productos lácteos aumente en un 73% y 58%, respectivamente (Santeramo *et al.*, 2019). A pesar de su importancia económica, el sector ganadero también es una fuente importante de emisiones de GEI, particularmente como emisiones de metano entérico (Arango *et al.*, 2020). Las principales emisiones de GEI emitidas directamente por los animales son el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O). El CH₄ se produce durante la descomposición de la materia orgánica en condiciones anaeróbicas (fermentación entérica en rumiantes y almacenamiento de estiércol). El N₂O se libera durante la transformación

microbiana del nitrógeno en el suelo o el estiércol (procesos de nitrificación y desnitrificación), así como durante la producción de fertilizantes nitrogenados (Ersoy & Ugurlu, 2020).

El sector agrícola depende directamente de los recursos naturales que consumen, alrededor del 70% del agua dulce mundial, mientras que ocupa el 40% de la superficie terrestre. La mayoría de los métodos convencionales que ya existen en la producción agrícola son a menudo insostenibles, lo que conduce a la contaminación ambiental y al agotamiento de los recursos naturales de los que se basa principalmente la producción agrícola. Por ejemplo, en Asia, debido a prácticas de riego inadecuadas, se han producido mayores emisiones de metano y salinización, y el alto uso de fertilizantes nitrogenados ha provocado emisiones nocivas de gases de efecto invernadero. Esto convierte al sector agrícola en una fuente líder de emisiones de metano y óxido nitroso (NO_x), una fuente sustancial de emisiones de carbono y un factor clave detrás de la deforestación mundial (Panchasara *et al.*, 2021).

2.1.3 Tratamiento de residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales presentan un alto potencial de aprovechamiento gracias a su variada composición química, y esto se ve reflejado en la diversidad de alternativas existentes para su reutilización. Es posible obtener de aquellos, materia prima óptima para utilizarse en diferentes procesos y diversos productos de interés ambiental, social o económico (Vargas-Corredor & Pérez-Pérez, 2018).

La digestión anaerobia es un proceso aplicado para tratar diversos tipos de residuos orgánicos, como estiércol de animales y ganado, desperdicios de alimentos, desperdicios sólidos municipales orgánicos, desechos industriales, lodos de alcantarillado y residuos agrícolas; se usa comúnmente debido a su capacidad para ofrecer varios beneficios como el bajo costo y la protección del medio ambiente, la reducción de patógenos y la producción de fertilizante orgánico como subproducto (Khalil *et al.*, 2019), puede transformar considerablemente el volumen de materia orgánica y al mismo tiempo proporciona un potencial energético (biogás) (Montejo Olan *et al.*, 2016), una mayor producción de metano

se logra a temperatura termofílica, pero no siempre es así. Además, las altas temperaturas requieren una mayor aportación de energía, lo que resulta en una menor diversidad microbiana y también en mayores costos operativos (Farooq *et al.*, 2017). Sin embargo, la densidad de energía del biogás es sustancialmente más baja que la del gas natural debido al alto contenido de CO₂. Además, muchas plantas de biogás a menudo no cuentan con instalaciones de contención adecuadas para evitar la descarga de abonos no tratados al medio ambiente (Lee *et al.*, 2018).

La digestión aeróbica Se suele utilizar en tratamiento de aguas residuales debido a la abundante presencia de aire, en este proceso, los residuos orgánicos son utilizados como sustratos, para el crecimiento de bacterias aerobias. De esta manera se logra reducir el volumen de los residuos, también hay una disminución de sólidos volátiles en suspensión (SVS) debido a la aireación por un periodo significativo de tiempo, la materia orgánica se oxida y los productos como el dióxido de carbono, el nitrato y el fosfato se generan con la liberación de calor (Z. Zhang *et al.*, 2016).

El proceso de compost es considerado como una estrategia adecuada para el reciclaje de desechos agrícolas. El compost es un proceso biológico y amigable con el medio ambiente, a través del cual los microorganismos aerobios mesofílicos y termofílicos consumen la materia orgánica como alimento y la convierten en productos minerales, como CO₂, H₂O y NH₄, o compuestos orgánicos estabilizados, como compuestos húmicos. El producto final del proceso de compostaje se puede utilizar en tierras agrícolas como fertilizantes y en tierras insostenibles como reformadores. Sin embargo, la aplicación de grandes cantidades de compost puede causar efectos negativos en las plantas y los seres humanos (Jalili *et al.*, 2019). Estudios recientes demostraron que, aunque el compostaje es un método eficaz para la bioconversión de desechos, sus principales desafíos son las emisiones gaseosas y las impurezas. El óxido nitroso y el metano generado durante el compostaje, contribuyen significativamente al calentamiento global. Se informa que su impacto es 310 y 20 veces mayor que el dióxido de carbono (Nasini *et al.*, 2016).

El ensilaje de forraje verde es una técnica de conservación que se basa en procesos químicos y biológicos generados en los tejidos vegetales cuando éstos contienen suficiente cantidad de hidratos de carbono fermentables y se encuentran en un medio de anaerobiosis adecuada. La finalidad de este proceso consiste en desencadenar, en la biomasa tratada, fermentaciones lácticas que reduzcan el pH y estabilicen el producto; sin embargo, si se presentan fermentaciones acéticas o butíricas, éstas degradan la proteína y producen amoníaco y otros fermentos que deterioran el producto ensilado (Chicaiza Muyulema, 2016).

La tecnología de bioprocesamiento ha abierto un nuevo camino al utilizar los residuos agrícolas como fuente de nutrientes para que los microorganismos produzcan productos biológicos valiosos, como enzimas, ácidos orgánicos y otros metabolitos útiles que tienen diversas aplicaciones en diversos campos. La bioconversión de la biomasa en bioenergía es la aplicación más apreciada de los residuos agrícolas, especialmente la que es de naturaleza celulósica (Singhania *et al.*, 2017).

2.2 Bioconversión anaerobia de residuos

Un proceso de bioconversión se puede entender como aquel en el que la proporción de nutrientes presentes en los sustratos son incorporados a productos como biomasas, biogás o bioetanol (Parodi *et al.*, 2020). Debido a la abundancia y disponibilidad de residuos agroindustriales, y su composición (celulosa, hemicelulosa y lignina), existe un creciente interés en su reciclaje y valorización, a través de la fermentación microbiana, como una excelente estrategia para el manejo de residuos. La valorización de los residuos es el proceso de convertir los materiales de desecho en productos más útiles, como ácido succínico, alcoholes, bioplásticos, biocombustibles (bioetanol y biodiesel) y otras fuentes de energía, así como alimentos para animales (Yafetto *et al.*, 2023).

La obtención de biomasas nutritivas a través de la bioconversión fermentativa anaerobia de residuos orgánicos agrícolas y ganaderos, es una solución atractiva económicamente, de bajo costo y abundante materia prima, simplicidad del proceso y cuidado del medio ambiente.

En la Tabla 2.1 se muestran diferentes tratamientos realizados a residuos agrícolas y ganaderos, así como sus aplicaciones.

Tabla 2.1 Tratamientos y aplicaciones de residuos agroindustriales

Tratamiento/ Aplicación	Descripción	Referencia
Hidrólisis ácida	Obtención de celulosa a gran escala a partir de RAC con un rendimiento de 34% de celulosa final y 50% de rendimiento de la fibra tratada. Dado que el fin era realizar recipientes biodegradables, se estudió la cristalinidad siendo en este caso de 69%.	(Ross-Alcudia <i>et al.</i> , 2017)
Degradación enzimática	Se aisló la enzima lacasa para determinar la eficiencia de esta, para degradar compuestos lignocelulósicos de residuos de caña, se realizó durante 45 días, a 30 °C y agitación constantes (100 rpm), obteniendo una degradación del 49% de lignina del sustrato.	(Valdés <i>et al.</i> , 2020)
Biodigestión de porcinaza	Obtención de biogás y biofertilizante, por 28 días teniendo 1300 mL de biogás aproximadamente.	(Ariza Martínez <i>et al.</i> , 2017)
Bioconversión de bagazo de caña de azúcar	Producción de bioetanol por pretratamiento en estado sólido por <i>Aspergillus niger</i> TK1 (hidrólisis) para posteriormente ser fermentado con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> obteniendo un máximo de 8.98 g/L de etanol, siendo un 90.33% de eficiencia.	(Khonggam & Salakkam, 2019)

2.3 Probióticos en procesos de bioconversión

Los probióticos son reconocidos como suplementos alimenticios para humanos y en animales de granja. También se utilizan en la acuicultura para inhibir el crecimiento de patógenos y reducir la presencia de virus. Estos pueden incrementar la cantidad de nutrientes, actividad enzimática, respuesta inmune y mejorar la calidad de aguas (Kewcharoen & Srisapoome, 2019). Más precisamente, los probióticos son microorganismos vivos no tóxicos ni patógenos que pueden administrarse por vía digestiva para aportar efectos beneficiosos al huésped (Ding *et al.*, 2021). De acuerdo con las sugerencias de la OMS, la FAO y la EFSA (la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), en su proceso de selección, las cepas probióticas deben cumplir criterios tanto de seguridad como de funcionalidad, así como los relacionados con su utilidad tecnológica. Las características probióticas no están asociadas

con el género o la especie de un microorganismo, sino con pocas cepas especialmente seleccionadas de una especie en particular (Markowiak & Ślizewska, 2017). La seguridad de una cepa se define por su origen, la ausencia de asociación con cultivos patógenos y el perfil de resistencia a antibióticos. Los aspectos funcionales definen su supervivencia en el tracto gastrointestinal y su efecto inmunomodulador. Las cepas probióticas deben cumplir los requisitos asociados a la tecnología de su producción, lo que significa que deben poder sobrevivir y mantener sus propiedades durante los procesos de almacenamiento y distribución (Markowiak & Ślizewska, 2017). Estos microorganismos contribuyen directa o indirectamente a varios beneficios para la salud, incluida la protección contra microorganismos patógenos, hipertensión, inflamación, diabetes, estrés oxidativo, y también están involucrados en la modulación del microbioma, la modulación inmune y la actividad anti-colestérmica (Novik & Savich, 2020). Para promover sus efectos beneficiosos sobre el huésped, los probióticos deben sobrevivir al tránsito gastrointestinal, las condiciones ácidas del ambiente gástrico y poder llegar al intestino grueso en cantidades adecuadas para permitir la colonización y proliferación. Los probióticos ayudan a restaurar la microbiota intestinal, mediante la adhesión y colonización de la mucosa intestinal, evitando la proliferación de bacterias patógenas, además de competir por los nutrientes disponibles en el nicho ecológico (Da Silva *et al.*, 2021)

Por otro lado, los tratamientos de excretas ganaderas como fermentación, acidificación o pasteurización reducen la presencia de microorganismos patógenos y a su vez disminuye el contenido de carbohidratos presentes por acción fermentativa de probióticos como las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), lo que resulta en un producto rico en nutrientes que se puede aprovechar como ingrediente alternativo en la alimentación de animales de granja (Ruvalcaba-Gómez *et al.*, 2019).

2.3.1 Mecanismos de acción de los probióticos

El mecanismo general de los probióticos en el huésped incluye aumentar la producción de enzimas que favorecen la digestión y absorción de nutrientes, mejorar la morfología de IEC y potenciar una respuesta inmune, aumentando la abundancia de microorganismos favorables en el intestino, promoviendo la función de barrera de IEC, e inhibiendo la adhesión de

patógenos y toxinas a IEC (Jäger *et al.*, 2018; Shin *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019).

2.3.2 Actividad probiótica en animales

La aplicación de probióticos puede reducir la propagación de patógenos en el ganado y las aves de corral, mejorar la digestión y absorción de los nutrientes intestinales y mantener un estado micro ecológico saludable. Además, el uso de fármacos antimicrobianos utilizados en terapéutica veterinaria para prevenir y tratar enfermedades en las últimas décadas ha llevado a la farmacorresistencia de bacterias patógenas, haciendo que el tratamiento con fármacos antimicrobianos sea cuestionado. Por lo tanto, los antibióticos se han prohibido a gran escala y se necesitan con urgencia reemplazos. Evidencia sustancial ha demostrado que los probióticos desempeñan un papel importante en la regulación del rendimiento del crecimiento, la respuesta inmunitaria y la salud intestinal (Ding *et al.*, 2021). En la Tabla 2.2 se resumen algunos de estos beneficios.

Tabla 2.2 Efectos de los probióticos sobre la salud intestinal en animales monogástricos

Probióticos	Desempeño positivo	Referencia
<i>Bacillus coagulans</i> <i>Lactobacillus</i>	Inhibe el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella</i> ; el valor del pH tiende a ser ácido.	(Al-Khalaifa <i>et al.</i> , 2019)
<i>Clostridium butyricum</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	Rendimiento positivo Inhibe el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella</i> ; el valor del pH tiende a ser ácido. Mejora el rendimiento del crecimiento, la morfología intestinal y la microflora del colon.	(Cao <i>et al.</i> , 2019)
<i>B. subtilis</i> DSM25841	Reduce la infección por <i>E. coli</i> F4ac; reduce la diarrea causada por la infección por <i>E. coli</i> en lechones destetados; afecta el perfil del transcriptoma mucoso.	(Luise <i>et al.</i> , 2019)
<i>Bacillus</i>	Reduce la población de <i>E. coli</i> ; aumenta la población de <i>Lactobacillus spp</i> ; mejora la digestibilidad de la fibra cruda; aumenta la altura de las vellosidades.	(Rodjan <i>et al.</i> , 2018)

2.3.3 Bacterias Ácido Lácticas (BAL)

Las Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) son comúnmente utilizadas en la industria alimentaria debido a que tienen la capacidad de brindar características propias de productos fermentados como textura, sabor y olor, también se utilizan para producir biomasas con alto contenido probiótico y ácido láctico (AL) (Spann *et al.*, 2018). Son bacterias Gram positivas, no forman esporas, tiene forma de cocos o bacilos, considerados anaerobios facultativos, y pueden sintetizar AL en procesos fermentativos (Heredia-Castro *et al.*, 2017).

Varios miembros de BAL, cultivos puros o mixtos, son comúnmente utilizados como probióticos (aditivos alimentarios microbianos). De acuerdo con estudios anteriores, estos aditivos microbianos pueden adherirse y sobrevivir en el tracto gastrointestinal de los animales, en los que actúan sobre la estabilidad y la protección de este ecosistema. También contribuyen al sistema digestivo y los procesos metabólicos, así como para la modulación de la respuesta inmune local y sistémica (García-Hernández *et al.*, 2016). Dentro de este grupo, los más importantes pertenecen al género *Lactobacillus*, conocidos como GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros) y considerados benéficos por su capacidad de digerir proteína, carbohidratos y grasas de los alimentos, cualidad que les permite ayudar al organismo huésped en la absorción de nutrientes esenciales como minerales, aminoácidos y vitaminas. Otra característica importante es su capacidad para inhibir otros microorganismos como bacterias patógenas causantes de problemas a nivel agroindustrial y sanitario (Jurado-Gómez & Jarrín-Jarrín, 2015).

Diversos estudios han sugerido que las bacterias lácticas, incluyendo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, aumentan la tasa de erradicación de la infección por *H. pylori*. Las BAL inhiben el crecimiento de *H. pylori* a través de la secreción de componentes proteínicos o ácidos orgánicos, disminuyen la capacidad de adherencia de *H. pylori* a las células epiteliales gástricas, reducen la inflamación de la mucosa y estabilizan la barrera gástrica (Zheng *et al.*, 2016). En la Tabla 2.3 se muestran algunas BAL utilizadas en procesos fermentativos o de bioconversión.

Tabla 2.3 BAL utilizadas en procesos fermentativos

BAL	Características	Referencia
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Aerotolerante, homofermentativa, pH 5.5-7.0. Utilizada como cultivo iniciador de la fermentación en la producción de yogurt y queso.	(Spann <i>et al.</i> , 2018)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Fermentaciones y procesamiento de alimentos crudos, tiene propiedades antioxidantes, desarrolla nuevos probióticos, tiene actividad antimicrobiana, es estimulante del sistema digestivo.	(Behera <i>et al.</i> , 2018)
<i>Bacillus spp.</i>	Se pueden encontrar en el suelo y agua, pueden sobrevivir en el sistema digestivo por el ácido. Es Gram positiva, puede crear esporas, pueden producir componentes como tripsina, lipasa, amilasa y péptidos antimicrobianos.	(Kewcharoen & Srisapoome, 2019)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Es un componente clave en la microflora intestinal de los humanos, es utilizada en procesos de fermentación de yogurt. Sobrevive a temperaturas de 42-52 °C, bacteria homofermentativa.	(Zhen <i>et al.</i> , 2020)

Lactobacillus acidophilus

Es una bacteria gram positiva, pertenece a las bacterias homofermentativas, una característica propia de esta especie es que resisten la acidez gástrica. Puede crecer en un rango de temperatura de 43-48 °C siendo 37 °C la óptima de crecimiento. Tiene diversos beneficios al huésped, como equilibrio de la flora intestinal, reduce la actividad de células cancerígenas, entre otros. Además, se tiene registro de que inhiben el crecimiento de patógenos como *E. coli* o *S. aureus* (Llerena Ramírez *et al.*, 2017).

L. acidophilus es una de las especies más conocidas del género *Lactobacillus* en el grupo de las BAL y existe en el tracto gastrointestinal y la vagina de humanos y animales; produce compuestos antimicrobianos, incluidos ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetilo, amoniaco, dióxido de carbono, etanol y bacteriocinas (Ozogul *et al.*, 2020). Es un probiótico muy utilizado en procesos fermentativos, se adapta fácilmente en el intestino, por su tolerancia a las condiciones acidas del tracto intestinal y por su capacidad de formar colonias en el huésped. Tiene gran capacidad de absorber y catabolizar carbohidratos complejos que

son difíciles de digerir (Theilmann *et al.*, 2017). *L. acidophilus* puede aliviar la inflamación intestinal y aumenta la integridad intestinal. La introducción de *L. acidophilus* en el tracto gastrointestinal de los animales, restaura las poblaciones probióticas adherentes a la mucosa produciendo factores inmunorreguladores que pueden aumentar la colonización o supervivencia en el huésped (S. Cao *et al.*, 2016).

Lactobacillus fermentum

Es una bacteria heterofermentativa grampositiva que se encuentra en los productos lácteos, las aguas residuales, el estiércol, las verduras en fermentación y la boca y heces de los seres humanos. Es ampliamente considerada como una cepa probiótica segura. Fue incluido en la lista de Presunción Cualificada de Seguridad (QPS) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en 2009, catalogado como un organismo "generalmente reconocido como seguro" (GRAS) por la Agencia de Alimentos de EE. UU. y la Administración de Drogas (FDA) en 2013 e incluida en la lista de bacterias que podrían usarse en alimentos en China en 2011 (Zhao *et al.*, 2019).

Un número creciente de estudios ha proporcionado evidencia del antagonismo entre *L. fermentum* y una variedad de bacterias y hongos patógenos, como *Staphylococcus aureus* (Kang *et al.*, 2017), *Candida albicans* (Rossoni *et al.*, 2018), *Helicobacter pylori* (García *et al.*, 2017), *Campylobacter jejuni* (Lehri *et al.*, 2017) y *Aspergillus parasiticus* (Ghazvini *et al.*, 2016). La actividad bacteriostática de *L. fermentum* se puede atribuir a su producción de ácidos orgánicos (principalmente ácidos láctico y acético) y péptidos antimicrobianos. Las cepas de *L. fermentum* han mostrado una tasa de supervivencia de más del 90 por ciento a pH 4 durante 3 horas y alta concentraciones de sales biliares cuya tasa de supervivencia se asoció con el tiempo de tolerancia y el pH (Zhao *et al.*, 2019).

Bacillus subtilis

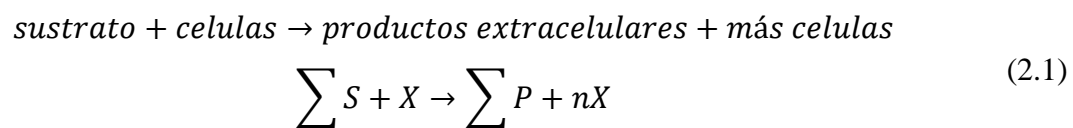
Bacillus subtilis se convirtió en la especie más estudiada del género *Bacillus* debido a su competencia natural para la captación de ADN extracelular que facilita la modificación genética simple y la aparición de esporulación, uno de los primeros procesos de diferenciación de células bacterianas estudiados. Las esporas latentes pueden sobrevivir a

circunstancias duras (alta temperatura, desecación, radiación ultravioleta y γ), depredación por microorganismos y macroorganismos, o incluso condiciones extraterrestres. *B. subtilis* se puede aislar de varios entornos, desde el suelo hasta los hábitats marinos, y se puede utilizar en diversas aplicaciones, desde la producción de enzimas y la fermentación de alimentos hasta el control biológico de las plantas (Kovács, 2019).

Bacillus subtilis es una bacteria probiótica formadora de esporas, grampositiva; puede mejorar la salud intestinal y el bienestar del huésped de diferentes maneras, como bajar el pH intestinal a través de la fermentación de ácido, estimular el sistema inmunológico asociado con el intestino, aumentar la capacidad antioxidante intestinal, y estimular los linfocitos intraepiteliales intestinales (Bai *et al.*, 2017). Las especies de *Bacillus* son anaerobios facultativos que tienen la capacidad de crecer aeróbicamente o anaeróbicamente. Recientemente, las especies de *Bacillus* se han utilizado para el tratamiento de aguas residuales municipales (Yang *et al.*, 2017).

2.4 Crecimiento bacteriano

Para el estudio de microorganismos es importante medir la tasa de crecimiento de estos, siendo esta respuesta muy esencial. Pueden crecer en diferentes condiciones físicas, químicas y nutricionales, ya que extraen nutrientes del medio en el que se encuentran para convertirlo en componentes biológicos. Gran parte de esos nutrientes son aprovechados como fuente de energía, biosíntesis o formación de nuevos productos, dando resultado a un incremento en la masa microbiana respecto al tiempo que se puede describir de acuerdo con la Ecuación 2.1 (Shuler *et al.*, 2017)



La velocidad de crecimiento está directamente relacionada con la concentración celular, definida por la Ecuación 2.2, la velocidad específica de crecimiento. La cuantificación de la

concentración celular en un medio de cultivo es esencial para determinar la cinética y estequiometría del crecimiento microbiano.

$$\mu_{net} = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (2.2)$$

Cuando a un medio líquido se inocula un microorganismo, empieza a absorber los nutrientes e inicia la conversión a biomasa. Una curva típica de crecimiento bacteriano incluye las fases: fase lag o de adaptación, fase exponencial o logarítmica, fase de desaceleración, fase estacionaria y fase de muerte (Shuler *et al.*, 2017; Stanbury *et al.*, 2017).

Fase lag o adaptación: ocurre inmediatamente después de la inoculación, es el periodo de adaptación de las células a un nuevo ambiente. Durante esta etapa se incrementa un poco la masa celular, sin incrementar la densidad celular.

Fase exponencial o logarítmica: las células se han ajustado al nuevo ambiente (medio de cultivo), en esta etapa la densidad celular se incrementa rápidamente. Las células crecen a una tasa máxima constante y el aumento en la concentración de biomasa será proporcional a la concentración inicial de biomasa.

Desaceleración. En esta fase el crecimiento desacelera debido al agotamiento de uno o más nutrientes esenciales o la acumulación de productos tóxicos para el crecimiento. Debido a este cambio se da un desequilibrio en el crecimiento, ocasionando un cambio en la composición celular y tamaño de las bacterias, se dice que lo provoca el estrés al que se pueden ver sometidas por el decremento de nutrientes o acumulación de desechos, generando un ambiente hostil.

Fase estacionaria: inicia al final de la fase de desaceleración cuando la velocidad de crecimiento es cero y no hay división celular o cuando la velocidad de crecimiento es igual

a la velocidad de muerte. En esta fase ocurren dos fenómenos principales: la concentración celular se mantiene constante pero el número de células viables disminuye y hay lisis celular.

Fase de muerte: es seguida de la fase estacionaria. La muerte celular inicia durante la etapa estacionaria y es aquí cuando incrementa. Además, la concentración de nutrientes disminuye y se puede dar un ambiente tóxico.

CAPÍTULO 3 . METODOLOGÍA

3.1 Metodología Experimental

En la Figura 3.1 se muestra la metodología general utilizada para el cumplimiento de los objetivos de este proyecto.

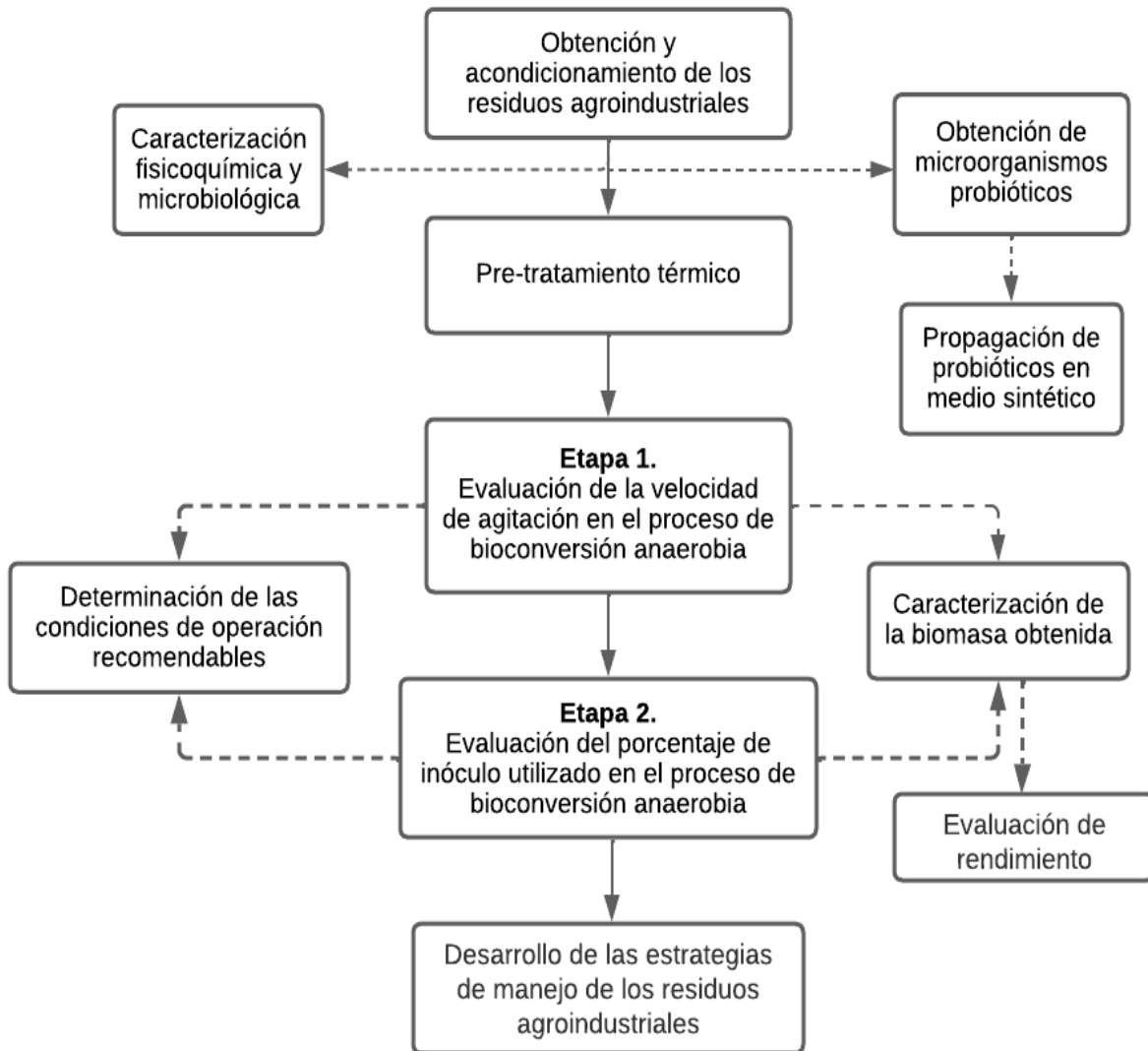


Figura 3.1 Diagrama de bloques de la metodología general

3.2 Obtención y acondicionamiento de residuos agroindustriales

Residuos agrocañeros (RAC)

El RAC fue proporcionado por el Ingenio Central Progreso ubicado en Paso del Macho, Veracruz. La muestra estuvo conformada por tallos secos y verdes, cogollo, hierbas secas y hojas. Posterior a su obtención, el RAC fue secado en estufa durante 8 horas y se trituró con un molino para obtener un polvo, de este modo se realizó la dilución correspondiente para tener una concentración de 100 g RAC/L. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Residuos de maíz blanco (olote)

Los residuos de maíz blanco se obtuvieron del Mercado Emiliano Zapata ubicado en Orizaba, Veracruz. La muestra estuvo conformada por hojas y olote. Posterior a su obtención, la muestra fue secada al sol durante 8 horas y posteriormente se trituró para obtener un polvo, de este modo se realizó la dilución correspondiente para tener una concentración de 130 g de residuo de maíz por litro. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Residuos de café (pergamino)

El residuo de café fue proporcionado por un beneficio cafetalero ubicado en la localidad de Potrero Nuevo, municipio de Atoyac, Veracruz. La muestra del residuo de café consistió en pergamino seco, el cual fue obtenido al ser separado de la semilla después de haber sido sometida a secado al sol durante 5 a 7 días. La muestra de pergamino fue pulverizada en un molino de café. Se realizó una dilución de 30 g de pergamino en 200 mL de agua para obtener alrededor de 6-8% de sólidos totales para su caracterización. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Residuo avícola (pollinaza)

La obtención del residuo avícola se realizó en una granja perteneciente al Grupo San Antonio, S.A. de C.V., ubicada en el municipio de Fortín de las Flores, Veracruz. Las muestras obtenidas estuvieron conformadas de pollinaza de primera y pollinaza de segunda; estas fueron depositadas en recipientes de 2 kg para su fácil manejo, posterior se realizó una

dilución 1:4 para obtener una muestra de 3 a 6 % de Sólidos Totales para su caracterización. Este último se soportó con melaza diluida (1:20), considerando una concentración en el sustrato de 12 % v/v para obtener una concentración entre 15 y 30 g/L de carbohidratos. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Residuo bovino

La selección y obtención del residuo bovino se realizó en una granja localizada en la localidad de Jalapilla, municipio de Rafael Delgado, Veracruz. Las muestras obtenidas estuvieron conformadas exclusivamente de excretas de vacas y fueron depositadas en recipientes de 2 kg para su fácil manejo, posterior se realizó una dilución de 1:4 para obtener una muestra de 3 a 6 % de Sólidos Totales para su caracterización. Este último se soportó con melaza diluida (1:20), considerando una concentración en el sustrato de 12 % v/v para obtener una concentración entre 15 y 30 g/L de carbohidratos. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Residuo porcícola (porcinaza)

La recolección del residuo porcícola se realizó en una granja porcina semi-tecnificada ubicada en Orizaba, Veracruz. Las excretas en su mayoría estuvieron conformadas por orina y materia fecal, además de alimento no digerido. Posterior a su recolección, se realizó una dilución de 1:4 para obtener una muestra de 3 a 6% de Sólidos Totales para su caracterización. Este último se soportó con melaza diluida (1:20), considerando una concentración en el sustrato de 12 % v/v para obtener una concentración entre 15 y 30 g/L de carbohidratos. La muestra diluida se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

3.3 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agroindustriales

Los residuos se caracterizaron fisicoquímica y microbiológicamente con la finalidad de conocer sus propiedades, composición y los niveles de contaminantes de éstos. En la Tabla 3.1 se muestran los parámetros evaluados, así como el método bajo el cual se realizó cada análisis. Es importante mencionar que las determinaciones se realizaron posterior a la

dilución de los residuos, posterior al tratamiento térmico y posterior a la adición de melaza (para el caso de los residuos ganaderos).

Determinación de pH

Este parámetro se midió directamente de cada muestra con un potenciómetro marca Orión (modelo 250a) el cual se calibra con soluciones tampón de pH 4 y pH 7, ya que se sabe que las cinéticas realizadas con microorganismos probióticos presentan un mejor comportamiento con un pH de 5.5 a 7, por lo que es importante monitorear este parámetro para acondicionar el medio y regular el pH de ser necesario.

Tabla 3.1 Parámetros de caracterización de los residuos agroindustriales

Naturaleza	Parámetro [Unidad]	Método
	pH	Potenciométrico
Física	Sólidos Totales [%]	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC (2017)
	Sólidos Totales Volátiles [%]	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC (2017)
	Carbohidratos [g/L]	Antrona-sulfúrico
Química	Nitrógeno Total [%]	Método estándar SM 4500-N _{org} -B
	Proteínas [%]	Nitrógeno Kjeldahl
Microbiológica	Coliformes fecales [NMP/g ST]	NOM-004-SEMARNAT-2002
	<i>Salmonella spp.</i> [NMP/g ST]	NOM-004-SEMARNAT-2002

Determinación de sólidos totales y sólidos totales volátiles

Los Sólidos Totales (ST) se definen como el material residual después de la evaporación y el secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (2017). Para determinar los Sólidos Totales (ST), se tomaron 3 mL aproximadamente de muestra y se vertieron en un crisol que previamente se mantuvo a peso constante, se evaporaron las muestras a 103 – 105 °C durante 24 h. Finalmente se realizó el cálculo con la Ecuación 3.1.

$$\% ST = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \cdot 100 \quad (3.1)$$

Donde:

P_1 = Peso del crisol a peso constante (g).

P_2 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación (g).

P_3 = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco (g).

Los Sólidos Totales Volátiles (STV) se determinaron siguiendo el mismo método estándar 2540 G, la muestra seca obtenida del paso previo (Sólidos Totales) se llevó a calcinación en una mufla Thermo Sciencitic a 550 °C durante 2 h y el porcentaje de STV se calculó utilizando la Ecuación 3.2.

$$\% STV = \frac{P_3 - P_4}{P_3 - P_1} \cdot 100 \quad (3.2)$$

Donde:

P_1 = Peso del crisol a peso constante (g).

P_3 = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco (g).

P_4 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada (g).

Determinación de carbohidratos

El método de antrona-sulfúrico se basa en la hidrólisis del enlace glucosídico de ciertos carbohidratos y sacáridos en medio ácido fuerte (ácido sulfúrico), en donde los monosacáridos resultantes reaccionan con la antrona produciendo un derivado de furano de color verde-azulado que tiene su máximo de absorción en 620 nm.

La determinación de carbohidratos se realizó por este método, el cual consistió en diluir la muestra para tener una relación de 1:25, de esta dilución se tomaron 2 mL a las cuales se agregaron 8 mL de la solución de antrona-sulfúrico, la cual se prepara al momento de su uso, diluyendo 1 g de antrona en polvo en 760 mL de ácido sulfúrico concentrado para después aforar a 1 L con agua destilada, la preparación se debe realizar en un baño de hielo ya que la reacción es exotérmica. Posterior a la adición de la solución se llevaron las muestras a calentamiento a 94 °C por 12 min. Finalmente, las muestras se dejaron enfriar para leer la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Genesys 20 a una longitud de onda de 620 nm. Fue necesario preparar un blanco con 2 mL de agua destilada.

Determinación de nitrógeno total

El nitrógeno total se midió siguiendo la técnica analítica del método estándar SM 4500-N_{org}-B, este consiste en tomar una muestra con aproximadamente 40 mg de STV, a la cual se agrega una pizca de selenio en polvo (funciona como catalizador), 0.5 g de sulfato de potasio, 0.2 g de sulfato de cobre y 3 o 4 mL de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente, se llevó a digestión durante 2-4 h o hasta que la muestra tomara una coloración verde esmeralda o azul turquesa, en este momento se llevaron a destilación (a un destilador micro Kjeldahl), se agregaron aproximadamente 15 mL de hidróxido de sodio al 40% y el destilado se recibió en un vaso de precipitados que contenía 10 mL de ácido bórico al 4% y 1 gota de indicador azul-rojo de metilo (coloración morado claro). La destilación termina hasta que en el vaso receptor se tengan 40 mL o hasta el cambio de color a verde claro. Finalmente se titularon las muestras con ácido sulfúrico al 0.02 N, registrando el volumen gastado de ácido. El nitrógeno total se estima utilizando la ecuación 3.3:

$$\% N = \frac{G \cdot N \cdot 0.014^*}{M} \cdot 100 \quad (3.3)$$

Donde:

G = mL de solución gastados en la titulación.

N = normalidad de la solución en la titulación.

M = peso de la muestra (g).

*El valor de 0.014 corresponde a los mili equivalentes de nitrógeno.

Determinación de proteínas

Las proteínas son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, son importantes para el mantenimiento del cuerpo animal, crecimiento, desarrollo, producción y reproducción. Para la determinación analítica del contenido en proteína total o “proteína bruta” se utilizó el valor obtenido de nitrógeno total y un factor que varía según el origen de la muestra y se aplicó la ecuación 3.4:

$$\% P = \% N \cdot F \quad (3.4)$$

Donde:

% N: porciento de nitrógeno

F: factor de conversión según el origen de la muestra.

Determinación de coliformes fecales

Para esta determinación se utilizó el método descrito en el Anexo III de la NOM-004-SEMARNAT-2002, el cual describe la técnica para la cuantificación del grupo coliformes fecales en lodos y biosólidos. A través de diluciones sucesivas se obtienen inóculos, al menos, de una célula para obtener crecimiento en el medio de cultivo (tubos positivos), y otros que al sembrarse dan resultado positivo en por lo menos un tubo de la serie. La combinación de resultados positivos y negativos permite realizar una estimación de la densidad bacteriana reportada como NMP. El NMP de coliformes fecales se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el medio EC. Si se inoculan tres series de tres tubos y se utilizan volúmenes decimales diferentes, se obtiene el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente, siguiendo la Ecuación 3.5.

$$\frac{NMP}{gST} = \frac{NMP \text{ tablas} \cdot 10^6}{\text{mayor volumen inoculado}} \quad (3.5)$$

Determinación de Salmonella spp.

Para la determinación se utilizó el método descrito en el Anexo IV de la NOM-004-SEMARNAT-2002, y se basó en el enriquecimiento de la muestra con medios selectivos, que contienen sustancias inhibidoras, que favorecen el crecimiento de *Salmonella* spp.; reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y, de igual forma, impidiendo el desarrollo de bacterias coliformes asociadas. Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas, uniformemente distribuidas, a través de diluciones sucesivas de la muestra. El NMP de *Salmonella* spp; se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el caldo de selenito cistina. Se obtiene el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP.

3.4 Pre-tratamiento térmico de residuos agroindustriales

Se aplicó a todos los sustratos un tratamiento térmico de 90 °C durante 30 min ya que según lo reportado por Aguilar-Badillo *et al.*, (2019) se inactivan gran parte de los microorganismos patógenos que pudieran estar presentes en las muestras, posteriormente se tamizó para eliminar aglutinaciones formadas durante el calentamiento y obtener una muestra homogénea, finalmente se conservó en refrigeración a 4 °C. Después del tratamiento térmico se caracterizaron las muestras de acuerdo con la Tabla 3.1 para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

3.5 Obtención y propagación de microorganismos probióticos

Lactobacillus acidophilus

L. acidophilus se obtuvo de un medicamento comercial fabricado por la empresa Gelpharma S.A. de C.V Se trata de un medicamento en presentación de cápsulas las cuales contienen *L. acidophilus* vivos, aceite de soya, aceite vegetal hidrogenado, lecitina de soya y vitamina E.

Para la propagación, se extrajo el contenido de las cápsulas para incubar en medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe) el cual fue previamente esterilizado a 121 °C por 15 min., se incubaron en tubos de 10 mL (con el contenido de una cápsula), por 24 h a 37 °C ± 0.5. Posteriormente se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Lactobacillus fermentum

Lactobacillus fermentum CDBB-B-1893 se obtuvo como cepa pura de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, ubicado en la Colonia San Pedro Zacatenco, México, D.F.

Para la propagación se utilizó un medio MRS el cual fue previamente esterilizado a 121 °C por 15 min., para la primera siembra, se inocularon tubos de 10 mL tomando con asa estéril las colonias propagadas en el agar MRS y se incubaron por 24 h a 37 °C ± 0.5. Posteriormente, se sembraron tubos con 9 mL de medio MRS y 1 mL del tubo de la primera siembra, siguiendo las mismas condiciones de incubación. Finalmente se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Bacillus subtilis

Se adquirió el producto fungicida comercial “SERENADE ASO” fabricado por Bayer CropScience, que contiene la bacteria *Bacillus subtilis* cepa QST 713. Equivalente a 13.68 g/L, 1 x 10⁹ UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de producto y otros ingredientes inertes como: conservador, agentes quelantes, dispersante, aglutinante, espesante agua, preservativo y residuos de la fermentación.

Para la propagación se utilizó agar nutritivo (AN) el cual fue previamente esterilizado a 121 °C por 15 min., el medio se sirvió en cajas Petri estériles, en las cuales se realizó la siembra por estría, tomando una pequeña cantidad de muestra con un asa estéril. Después de la siembra, las cajas Petri fueron almacenadas dentro de una estufa de cultivo marca Felisa a temperatura de 36 °C durante 72 h.

3.6 Cinéticas de crecimiento de bacterias probióticas

Determinación de biomasa y AL

La biomasa se obtuvo por el método de peso seco el cual consistió en tomar 10 mL de muestra para ser centrifugada a 10,000 rpm por 10 minutos, se utilizó una centrifuga marca HERMLE-Lubnet Z323. Posteriormente se suspendieron los sólidos 2 veces con agua destilada (repetiendo la centrifugación) con el fin de retirar la mayor cantidad de compuestos indeseables (sales, residuos, etc.); se tomó previamente el peso del crisol (a peso constante), posteriormente la muestra se secó a 95 °C por 4 h.

Para evaluar la producción de AL se aplicó la metodología descrita en la norma NMX-F-716-COFOCALEC-2014, la cual consiste en la titulación de la muestra con NaOH 0.1 N, el cálculo se realizó a partir de la Ecuación 3.6.

$$\text{Ácido Láctico } \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{V \cdot N \cdot 90}{V_m} \quad (3.6)$$

Donde:

V = Volumen gastado de NaOH (mL)

N = Normalidad del NaOH

V_m = Volumen de la muestra (mL)

Obtención de parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos μ_{max} , K_s , $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ y λ (tiempo de lag o acondicionamiento) se determinaron con el modelo de Gompertz (Ecuación 3.7), en la cual para obtener μ_{max} se realizó el cociente de K_s/e y a su vez $\lambda = T_i - \frac{1}{K_s}$ (Tjørve & Tjørve, 2017).

$$LN(N(t)) = B + (A - B) \exp(-\exp(-K_s(t - T_i))) \quad (3.7)$$

Donde:

$N(t)$ = Concentración celular al tiempo t

A = Concentración celular asintótico a medida que el tiempo disminuye

B = asíntota inferior

T_i = Tiempo de inflexión (h)

3.6.1 Etapa 1: Evaluación de la velocidad de agitación

Condiciones de cultivo

La fermentación anaerobia se realizó en un reactor escala laboratorio de acero inoxidable con capacidad de 5 L, el cual tiene un agitador tipo hélice de dos palas y chaqueta de calentamiento. Se realizaron tres cinéticas para cada sustrato (RAC y porcínaza), teniendo tres diferentes velocidades de agitación 100, 150 y 200 rpm, durante 72 horas a temperatura constante (37 °C). Se añadió al reactor un volumen útil de los sustratos de 3.6 L y 0.4 L del matraz semilla considerando la relación 1:10. Se tomaron 20 mL de muestra cada 4 h para medir el consumo de sustrato, el crecimiento microbiano y la generación de AL.

Concentración celular

Se utilizó la cámara de Neubauer para realizar el conteo celular, se trata de una placa de cristal con forma de portaobjetos, de 30 x 70 mm y 4 mm de grosor. En la parte central se encuentra grabada una retícula cuadrangular (Figura 3.2); la retícula completa mide 3 mm x 3 mm de lado, subdividida a su vez en 9 cuadrados de 1 mm de lado cada uno; el cuadrado central se divide en 25 cuadrados medianos de 0,2 mm de lado, y cada uno de estos cuadros se subdivide a su vez en 16 cuadrados pequeños (Aguilar-Badillo *et al.*, 2019).

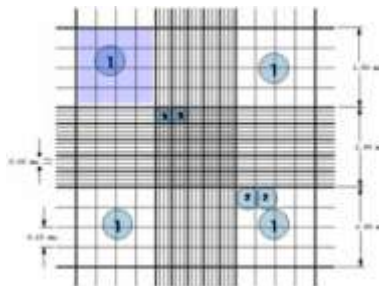


Figura 3.2 Cuadrantes de la cámara de Neubauer

Según lo descrito por Aguilar-Badillo *et al.*, (2019), se realizó una dilución con una concentración apta para el recuento, en torno a 10^6 (1 millón). El cálculo se realizó con la Ecuación 3.8 haciendo el conteo en las esquinas de los cuadros marcados con el número 1.

$$\frac{\text{No. Células contadas}}{\text{No. esquinas contadas}} \cdot f_{ccc} \cdot f_d = \frac{\text{Células}}{\text{mL}} \quad (3.8)$$

Donde:

f_{ccc} = Factor de conversión de la cámara de conteo (10,000)

f_d = Factor de dilución

3.6.2 Etapa 2: Evaluación del porcentaje de inóculo

Condiciones de cultivo

La fermentación anaerobia se realizó en matraces erlenmeyer de 250 mL con 150 mL de volumen útil, a los cuales se adicionó el sustrato y el inóculo de bacterias probióticas a diferentes concentraciones (5, 10 y 15 % v/v). Los matraces fueron colocados en una incubadora modelo ZHWY-100B a temperatura constante de 36 °C y en agitación a 110 rpm. Este proceso fue monitoreado durante 3 días y se tomaron muestras cada 8 horas para evaluar el consumo de sustrato, el crecimiento microbiano, la producción de AL y la generación de biomasa.

Conteo celular

El conteo celular se llevó a cabo mediante la técnica de placa vertida (Peng *et al.*, 2021), con la finalidad de contabilizar el crecimiento bacteriano en unidades formadoras de colonias (UFC). Se realizaron diluciones seriadas para mayor facilidad al momento del conteo y se utilizaron como medios de cultivo, agar MRS y agar nutritivo (AN). Se utilizó la Ecuación 3.9 para calcular la concentración de bacterias.

$$\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} = \text{colonias contadas} \cdot \text{factor de dilución} \cdot \text{volumen de inóculo} \quad (3.9)$$

3.7 Diseño experimental

Etapa 1: Evaluación de la velocidad de agitación

Se utilizó un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas sin aleatoriedad, donde las variables independientes fueron la especie de bacteria probiótica (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*) y la velocidad de agitación (100, 150 y 200 rpm). Se consideró como variable de respuesta al rendimiento de la biomasa celular. A través de este diseño experimental se pudo realizar el análisis de cómo es que interfiere la especie probiótica y la velocidad de agitación en el reactor durante el proceso fermentativo. La Tabla 3.2 muestra el diseño experimental utilizado a través del software Minitab 18.

Tabla 3.2 Diseño de experimentos para la etapa 1

Corrida	Bacteria	Agitación	Corrida	Bacteria	Agitación
1	LA	100	15	LF	200
2	LA	150	16	BS	100
3	LA	200	17	BS	150
4	LF	100	18	BS	200
5	LF	150	19	LA	100
6	LF	200	20	LA	150
7	BS	100	21	LA	200
8	BS	150	22	LF	100
9	BS	200	23	LF	150
10	LA	100	24	LF	200
11	LA	150	25	BS	100
12	LA	200	26	BS	150
13	LF	100	27	BS	200
14	LF	150			

Etapa 2: Evaluación del porcentaje de inóculo

Se utilizó un diseño factorial 3^2 con 3 réplicas sin aleatoriedad, donde las variables independientes fueron la especie de bacteria probiótica (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*) y el porcentaje de inóculo v/v (5, 10 y 15%). Se consideró como variable de respuesta al rendimiento de la biomasa celular. A través de este diseño experimental se pudo realizar el análisis de cómo es que interfiere la especie probiótica y la concentración de esta durante el proceso fermentativo. La Tabla 3.3 muestra el diseño experimental utilizado a través del software Minitab 18.

Tabla 3.3 Diseño de experimentos para la etapa 2

Corrida	Bacteria	Inóculo	Corrida	Bacteria	Inóculo
1	LA	5	15	LF	15
2	LA	10	16	BS	5
3	LA	15	17	BS	10
4	LF	5	18	BS	15
5	LF	10	19	LA	5
6	LF	15	20	LA	10
7	BS	5	21	LA	15
8	BS	10	22	LF	5
9	BS	15	23	LF	10
10	LA	5	24	LF	15
11	LA	10	25	BS	5
12	LA	15	26	BS	10
13	LF	5	27	BS	15
14	LF	10			

CAPÍTULO 4 . RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agroindustriales

4.1.1 Residuos agrícolas

En la Tabla 4.1 se presentan los valores obtenidos a partir de la caracterización fisicoquímica y microbiológica realizada a los residuos agrícolas. Cada una de las determinaciones se efectuó por triplicado, al residuo crudo y al residuo tratado térmicamente.

Un parámetro importante para este estudio es el pH, ya que además de la temperatura, este juega un papel importante para el correcto crecimiento bacteriano. En el caso del RAC y el pergamino, se observan valores similares de 5.60 y 5.50, respectivamente. Mientras que para el olote se obtuvo el valor de 6.27. A pesar de que el olote posee un pH ligeramente más alto que los otros dos residuos, los tres sustratos presentan tendencia leve a la acidez. El valor óptimo de pH varía dependiendo de la especie probiótica, sin embargo, algunos autores como Mora-Villalobos *et al.*, (2020), Rocafuerte-peña *et al.*, (2022) y Sánchez-Valeriano *et al.*, (2022), reportan un crecimiento adecuado de lactobacillus en sustratos con valores de pH entre 5.0 y 6.8. Los ST posteriores al pretratamiento térmico, fueron de 6.59, 6.13 y 8.45% para RAC, olote y pergamino, respectivamente, de los cuales 94.85, 92.95 y 89.03%, corresponden a los STV. El valor de STV del RAC es mayor a lo mencionado por Bortolotto-Teixeira *et al.*, (2020), quienes obtuvieron 86.60% en bagazo de caña; de igual forma, el valor de STV para el olote, resultó mayor a lo reportado por Méndez-Hernández *et al.*, (2019) quienes obtuvieron $84 \pm 0.01\%$ en rastrojo de maíz.

Se sabe que las BAL son microorganismos cuya principal fuente de carbono son los carbohidratos (Wang *et al.*, 2021), por lo cual es de gran importancia que los sustratos a utilizar, presenten alto contenido de este nutriente. De los residuos utilizados, el que reflejó mayor cantidad de carbohidratos fue el RAC con 58.46 g/L, seguido por el pergamino con 26.55 g/L y por último el olote con 20.01 g/L. El valor de carbohidratos obtenido por RAC es similar a lo reportado para paja de caña, la cual, puede tener valores de 54.02 a 71.92 g/L

(González-Leos *et al.*, 2020). Respecto al valor obtenido en el pergamino, Benitez *et al.*, (2019) mencionan que los azúcares se polimerizan en celulosa, hemicelulosa y estructuras pécticas, las cuales representan del 39 al 47% de su composición en peso seco, también Mendoza Martinez *et al.*, (2019) reportan contenido de 55.75% para azúcares totales en base seca libre de cenizas. En este caso, al ser una muestra diluida, los valores obtenidos resultan menores que los reportados por otros autores.

Las determinaciones de nitrógeno y proteínas, mostraron valores similares entre los sustratos agrícolas, sin embargo, el RAC alcanzó valores mayores respecto al olote y el pergamino, siendo de 0.24% N y 1.54% P. En un estudio realizado por Chandra *et al.*, (2018) reportaron 0.33% N en bagazo de caña, aunque se tiene registro de valores de 0.71% N (Janke *et al.*, 2017) y 0.13% N (Vieira *et al.*, 2018) para paja de caña. Los valores de nitrógeno, van en relación con el contenido de proteínas, en este caso, el valor de RAC se encuentra dentro de lo reportado que va de 0.82-2.11% P para residuos similares. Por otro lado, el residuo con menor contenido de proteínas resultó ser el olote, para el cual se obtuvo el valor de 0.94%, dicho valor se encuentra por debajo de lo reportado por Limongi *et al.*, (2019) quienes mencionan que el contenido de proteínas en maíz, corresponde a 9.79%. Sin embargo, Chan *et al.*, (2021) indican que los granos de maíz son los que contienen la mayor cantidad de lípidos y proteínas.

El comportamiento de los parámetros microbiológicos respecto al pretratamiento térmico de los residuos agrícolas, se refleja en la disminución de la cantidad de coliformes fecales y *salmonella* spp. El RAC, el olote y el pergamino, después del tratamiento térmico, presentan condiciones similares a lo que se considera un biosólido clase A, debido a que se obtuvieron valores de <1000 y <3 NMP/g ST para coliformes fecales y *salmonella* spp., respectivamente, según lo establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002. Por lo tanto, se puede decir que estos residuos agrícolas, son seguros para usos forestales, para el mejoramiento de suelos y para usos agrícolas con contacto directo con el público durante su aplicación.

Tabla 4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos agrícolas

Parámetro	RAC _C	RAC _T	Olotec	Oloter	Pergaminoc	Pergaminor
pH	5.40	5.60	6.00	6.27	5.30	5.50
ST [%]	5.22	6.59	5.95	6.13	8.16	8.45
STV [%]	94.47	94.85	92.37	92.95	88.18	89.03
Carbohidratos [g/L]	50.13	58.46	10.19	20.01	26.28	26.55
Nitrógeno Total [%]	0.15	0.24	0.17	0.15	0.23	0.23
Proteínas [%]	0.97	1.54	1.08	0.94	1.43	1.43
Coliformes fecales [NMP/g ST]	9.3 x 10 ⁴	<1000	<1000	<1000	2.4 x 10 ³	<1000
<i>Salmonella</i> spp. [NMP/g ST]	5.6 x 10 ⁴	<3	<3	<3	<3	<3

Tabla 4.2 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de residuos ganaderos

Parámetro	Pollinazac	Pollinazar	Pollinazar + melaza	R. bovino _C	R. bovino _T	R. bovino _T + melaza	Porcinazac	Porcinazar	Porcinazar + melaza
pH	7.60	7.60	7.38	7.10	7.50	7.10	7.50	7.80	7.50
ST [%]	4.76	6.47	6.32	4.05	6.23	6.51	4.63	5.13	5.62
STV [%]	77.90	78.44	82.34	84.09	81.76	82.24	69.73	70.06	77.86
Carbohidratos [g/L]	4.65	6.32	17.22	6.23	6.89	16.17	2.72	3.68	55.72
Nitrógeno Total [%]	0.59	0.63	0.69	0.25	0.08	0.12	0.36	0.42	0.45
Proteínas [%]	3.69	3.94	4.31	1.58	0.52	0.75	2.23	2.62	2.84
Coliformes fecales [NMP/g ST]	2.1 x 10 ⁹	<1000	<1000	4.6 x 10 ¹⁰	<1000	<1000	4.9 x 10 ⁹	<1000	<1000
<i>Salmonella</i> spp. [NMP/g ST]	2.4 x 10 ³	<3	<3	2.1 x 10 ⁶	<3	<3	3.4 x 10 ⁴	<3	<3

4.1.2. Residuos ganaderos

En la Tabla 4.2 se presentan los valores obtenidos a partir de la caracterización fisicoquímica y microbiológica realizada a los residuos ganaderos. Cada una de las determinaciones se efectuó por triplicado, al residuo crudo, al residuo tratado térmicamente y al residuo soportado con melaza.

Los residuos ganaderos poseen valores similares de pH, los cuales oscilan entre 7.10 y 7.50, con una ligera tendencia a la alcalinidad. Estos valores, son menores a lo mencionado por Li *et al.*, (2020) quienes reportaron pH de 8.59 para muestra fresca de residuo bovino. Sin embargo, Hunce *et al.*, (2020) obtuvieron un pH de 7.49 para purines de cerdo. A pesar de que los residuos ganaderos tienden a la alcalinidad, Estrada-García *et al.*, (2023) mencionan que es posible el crecimiento de *L. acidophilus*, teniendo como sustrato residuo porcícola con pH de 7.50. Los ST determinados después del tratamiento térmico y la adición de melaza, finalizaron en 6.32, 6.51 y 5.62% para pollinaza, residuo bovino y porcinaza, respectivamente, de los cuales 82.34, 82.24 y 77.86%, corresponden a los STV. Estos resultados fueron del más del doble de los obtenidos por Gomes de Oliveira Paranhos *et al.*, (2020) quienes reportaron 32.7% STV para estiércol de aves de corral.

Debido a que los residuos ganaderos poseen bajas concentraciones de carbohidratos, se decidió soportar con melaza dichos residuos, de los cuales se obtuvieron 17.22, 16.17 y 55.72 g/L, para pollinaza, residuo bovino y porcinaza, respectivamente. Estas concentraciones podrían beneficiar el crecimiento de las especies probióticas, ya que el medio de cultivo MRS, el cual es ideal para el crecimiento de estos microorganismos, posee aproximadamente 20 g/L de dextrosa. Las determinaciones de nitrógeno y proteínas de residuos ganaderos, fueron variados. El residuo con mayor contenido de proteínas fue la pollinaza con 4.31%, seguido de la porcinaza con 2.84% y, por último, el residuo bovino con 0.75%. Sin embargo, todos los valores se encuentran por debajo de lo reportado por Lu *et al.*, (2018), quien menciona que, al analizar diferentes muestras de estiércol de ganado, los contenidos de proteínas se encuentran entre 14.3-26.4% en base seca.

Finalmente, los parámetros microbiológicos resultan ser determinaciones de gran importancia al evaluar residuos ganaderos, pues como se observa en la Tabla 4.2, se obtuvieron valores entre 2.1×10^9 - 4.6×10^{10} NMP/g ST para coliformes fecales y de 2.4×10^3 - 2.1×10^6 para *salmonella* spp. en muestras crudas. Estos valores son similares a lo reportado por Sales-pérez *et al.*, (2023), quienes obtuvieron 2×10^9 y 9.3×10^4 NMP/gST para coliformes fecales y *salmonella* spp., respectivamente, en estiércol porcino. Debido a esto, se optó por realizar un pre-tratamiento térmico para eliminar los microorganismos patógenos, ya que son un riesgo para la salud humana y animal. Además, la presencia de otros microorganismos, puede influir en el correcto crecimiento de las especies probióticas al competir por sustrato. Al finalizar el tratamiento térmico, los valores de coliformes fecales y *salmonella* spp. fueron de <1000 y <3 NMP/g/ST, respectivamente, cumpliendo con los límites máximos permisibles para un biosólido clase A, establecidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002.

4.2 Cinéticas de crecimiento de especies probióticas. Etapa 1: evaluación de la velocidad de agitación

Como primera etapa para determinar las condiciones de operación recomendables para el proceso de bioconversión anaerobia, se optó por evaluar la influencia de la velocidad de agitación en el crecimiento de las especies probióticas, así como en la producción de biomasa. También, se presentan los parámetros cinéticos obtenidos mediante el modelo de gompertz, y los rendimientos de AL producido ($Y_{P/S}$). Posteriormente, se obtuvieron los rendimientos celulares ($Y_{X/S}$) alcanzados en cada residuo, así como la caracterización de la biomasa nutritiva. Por último, se realizaron los análisis estadísticos para determinar la especie probiótica recomendable y la agitación a la que debe llevarse a cabo el proceso para obtener el mayor rendimiento celular

4.2.1 Bioconversión fermentativa anaerobia con RAC

L. acidophilus

En la Figura 4.1 se muestran las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en RAC a diferentes velocidades de agitación. Para los experimentos realizados a 100 y 150 rpm, se observa que el consumo de carbohidratos durante las primeras 24 h corresponde al 21.09 y

31.72%, respectivamente. Sin embargo, el sustrato no llega a consumirse por completo al cabo de las 72 h establecidas, caso contrario a la cinética a 200 rpm, la cual, a pesar de iniciar con un consumo de sustrato más lento, concluye con la remoción de 100% de carbohidratos.

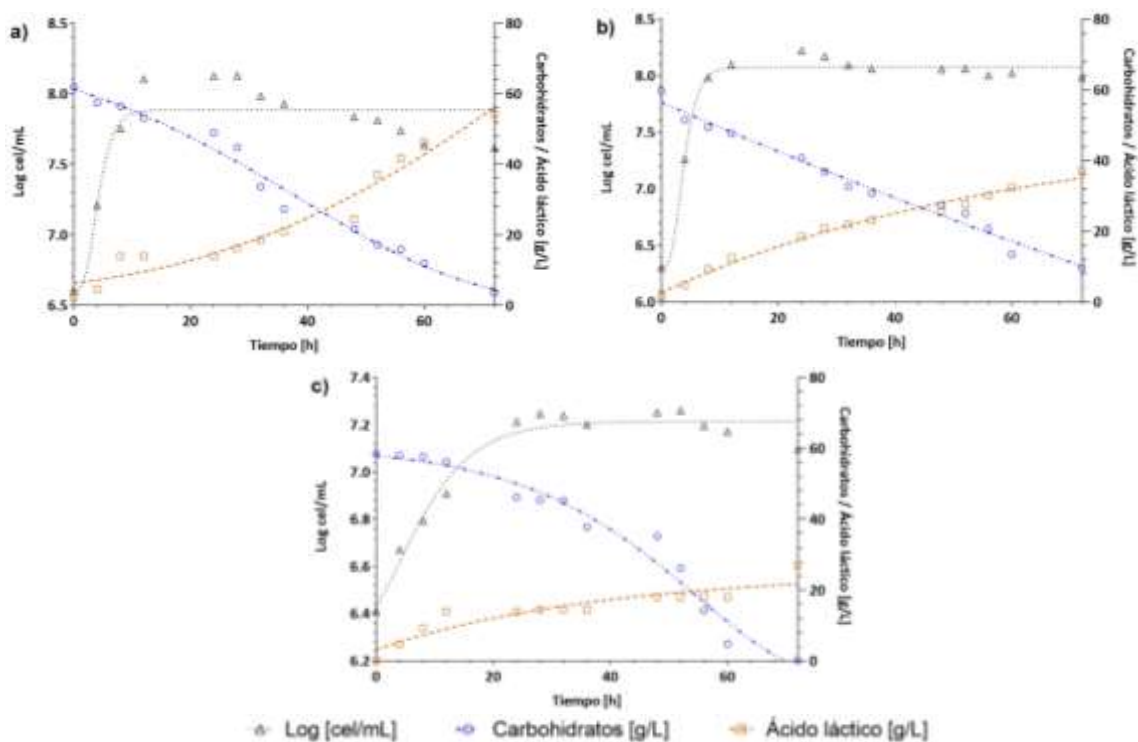


Figura 4.1 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

Por otra parte, la producción de AL se incrementa de manera acelerada en los tres casos de estudio, al cabo de las 72 h, se obtuvieron 51.84, 35.58 y 27.10 g/L para las cinéticas de 100, 150 y 200 rpm respectivamente. Este comportamiento es similar a lo reportado por Thakur *et al.*, (2017) quienes evaluaron la obtención de AL a partir de melaza y *L. casei*, alcanzando una producción de 128.45 g/L con una concentración inicial de 175 g/L de carbohidratos, sin embargo, mencionan que adicionaron CaCO_3 al sustrato, lo cual potenció la generación del producto. De igual manera, aplicaron velocidades de agitación de 0 a 200 rpm, siendo a 150 rpm en la que se obtuvo mayor cantidad de AL. Por otro lado, los valores máximos de concentración celular fueron de 8.13, 8.22 y 7.25 Log (cel/mL), para las cinéticas a 100, 150 y 200 rpm respectivamente. Este comportamiento, fue reportado por Mustafa *et al.*, (2019)

quienes observaron que durante un proceso fermentativo anaerobio con *L. casei* se reducía la densidad celular a velocidades altas.

En la Tabla 4.3 se presentan los parámetros cinéticos obtenidos para el crecimiento de *L. acidophilus* en RAC, donde se observa que los valores de μ_{max} son similares en los experimentos realizados a 100 y 150 rpm (0.22 y 0.23 h⁻¹, respectivamente). Dichos valores resultan ser más altos que lo reportado por Guo *et al.*, (2019), quienes obtuvieron una μ_{max} = 0.11 h⁻¹ al realizar pruebas en caldo MRS midiendo la influencia del aire en el proceso de bioconversión, encontrando que a pesar de que son microorganismos facultativos, la presencia de aire y sus componentes no favorecen el proceso. Los valores de μ_{max} y K_s , obtenidos a 150 rpm, indican que operando a esta velocidad de agitación existe mejor intercambio de masa en comparación a las cinéticas de 100 y 200 rpm. De igual forma, el valor de λ = 1.64 h a 150 rpm, indica un menor tiempo de adaptación de *L. acidophilus* al RAC utilizando esta velocidad de agitación.

Tabla 4.3 Parámetros cinéticos del crecimiento *L. acidophilus* en RAC

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	51.84	0.89	0.22	0.59	1.84	0.84
150	35.58	0.71	0.23	0.63	1.64	0.99
200	27.10	0.46	0.05	0.15	2.61	0.96

L. fermentum

En la Figura 4.2 se presentan las gráficas correspondientes a las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en RAC a diferentes velocidades de agitación, se observa que durante las primeras 24 h, el consumo de carbohidratos fue de 22.99, 20.07 y 19.56%, respectivamente. Cabe señalar que, en ninguna de las tres cinéticas el sustrato se consumió por completo. Por otra parte, la producción de AL resultó ser mayor en el experimento a 100 rpm, alcanzando la concentración de 34.70 g/L al finalizar el proceso. Este valor, se encuentra dentro de lo reportado en la literatura, ya que, Oonkhanond *et al.*, (2017) obtuvieron 21.3 g/L de AL a partir de hidrolizado de bagazo de caña de azúcar utilizando *L. casei*; mientras que Wischral

et al., (2018) alcanzaron una producción de 42.5 g/L AL durante la fermentación de hidrolizado de hemicelulosa en presencia de *L. pentosus*. Por último, se mencionan los valores máximos de concentración celular, los cuales fueron de 8.15, 8.28 y 7.90 Log (cel/mL) para las cinéticas de 100, 150 y 200 rpm respectivamente.

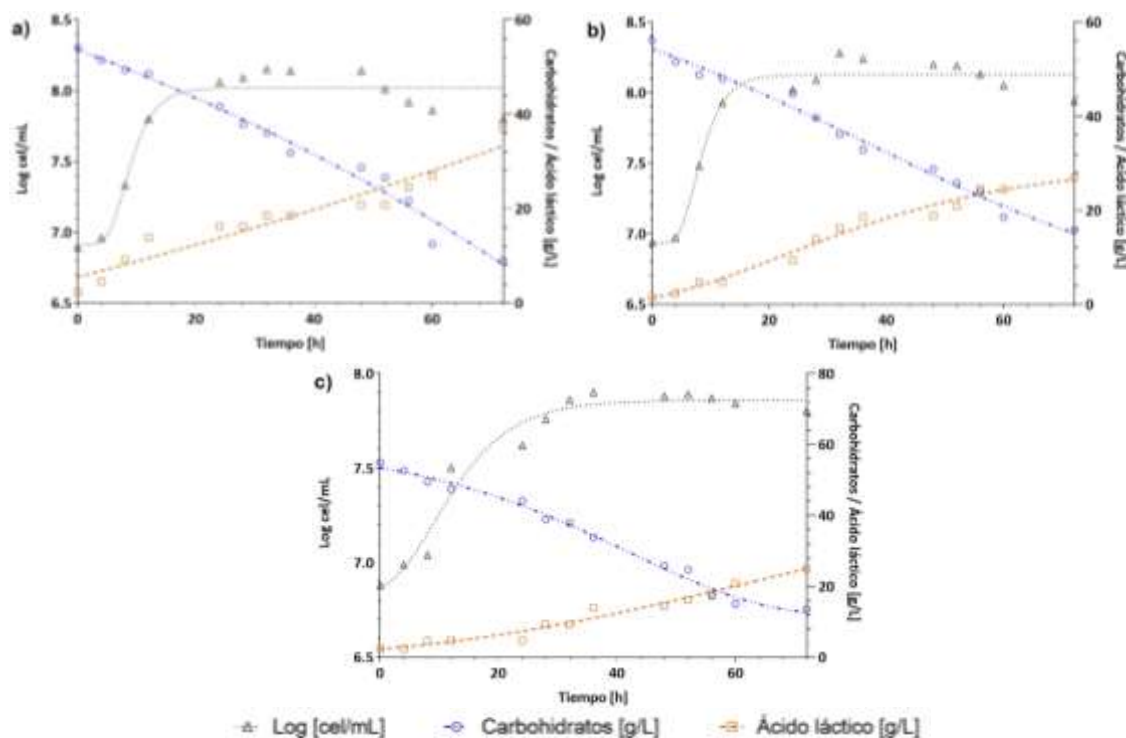


Figura 4.2 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

En la Tabla 4.4 se presentan los parámetros cinéticos para el crecimiento de *L. fermentum* en RAC, donde se observa que los valores de μ_{max} son iguales para los experimentos realizados a 100 y 150 rpm (0.13 h^{-1}). Sin embargo, la constante del consumo de sustrato es mayor en el experimento a 150 rpm ($K_s = 0.37 \text{ g/L}$). Estos valores, resultan similares a lo reportado por Romero-Mota *et al.*, (2023) quienes evaluaron el crecimiento poblacional de *L. acidophilus* en RAC con una velocidad de agitación de 150 rpm, y a partir del modelo logístico obtuvieron una $\mu_{max} = 0.10 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.28 \text{ g/L}$. Por otro lado, el menor tiempo de adaptación de *L. fermentum* en RAC fue de 2.16 h a 200 rpm, mientras que, a 100 y 150 rpm fue de 5.08 y 4.60 h respectivamente.

Tabla 4.4 Parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en RAC

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	34.70	0.77	0.13	0.356	5.08	0.94
150	25.50	0.63	0.13	0.37	4.60	0.96
200	22.68	0.55	0.05	0.14	2.16	0.97

B. subtilis

En la Figura 4.3 se muestran las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en RAC a diferentes velocidades de agitación. Se observa que durante las primeras 24 h, la mayor remoción de carbohidratos se dio en el experimento con velocidad de agitación de 150 rpm, alcanzando un consumo de sustrato del 40.95%, mientras que las cinéticas a 100 y 200 rpm, sólo removieron el 34.45 y 26.28% de carbohidratos respectivamente, en el mismo lapso de tiempo. Cabe señalar que, en ninguna de las tres cinéticas el sustrato se consumió por completo. Por otra parte, la producción de AL resultó ser mayor para el experimento a 100 rpm, alcanzando los 25.50 g/L a las 72 h. Este valor, se encuentra muy por encima de lo reportado por Park *et al.*, (2021), quienes mencionan la obtención de 0.05 g/L de AL a partir de melaza de caña de azúcar al 6% en presencia de *B. subtilis*, sin embargo, también reportan la generación de otros subproductos como etanol, ácido butírico, ácido acético y H₂. Por último, se mencionan los valores máximos de concentración celular, los cuales fueron de 8.30, 8.14 y 7.57 Log (cel/mL) para las cinéticas de 100, 150 y 200 rpm respectivamente.

En la Tabla 4.5 se presentan los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo de gompertz, donde se observa que existe mejor intercambio de masa en el experimento realizado a 200 rpm, ya que a esta velocidad de agitación, los valores de μ_{max} y K_s fueron de 0.16 h⁻¹ y 0.43 g/L respectivamente. Sin embargo, estos parámetros están por debajo de lo reportado por Ngoc Le *et al.*, (2023), quienes alcanzaron una $\mu_{max} = 0.44$ h⁻¹ y $K_s = 7.45$ g/L para el crecimiento de *B. subtilis* en almidón de semilla de jaca. Por otro lado, el valor de $\lambda = 1.17$ h a 100 rpm, indica un menor tiempo de adaptación de *B. subtilis* al RAC utilizando esta velocidad de agitación.

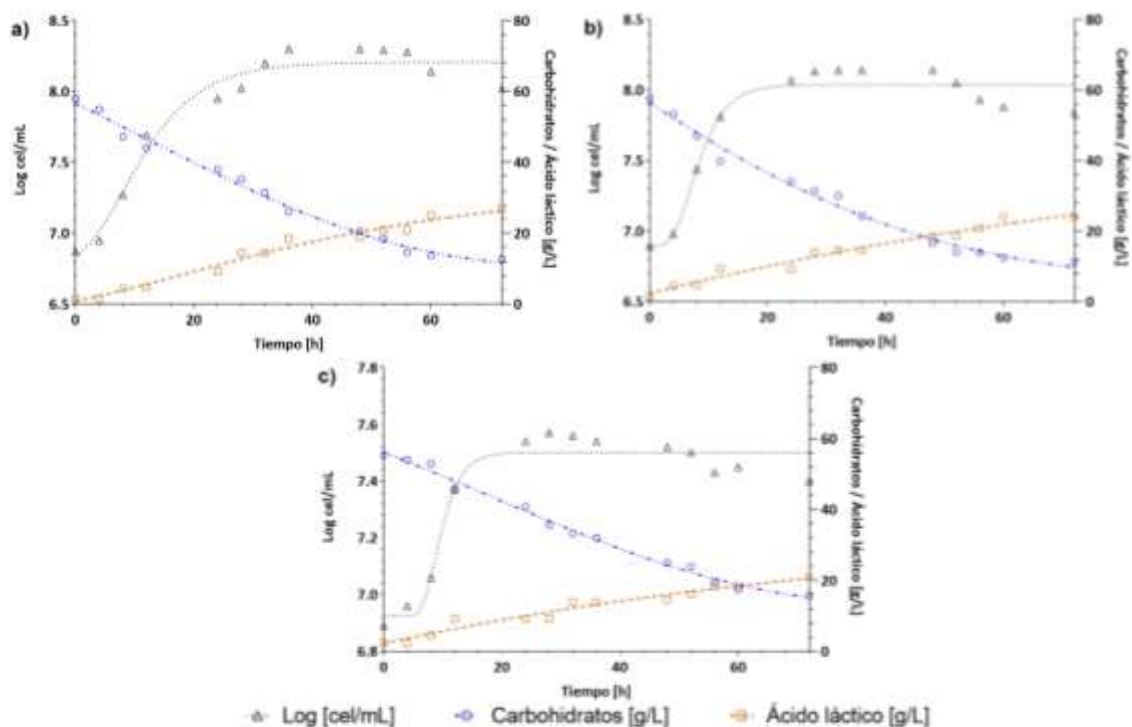


Figura 4.3 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en RAC: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

Tabla 4.5 Parámetros cinéticos del crecimiento de *B. subtilis* en RAC

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	25.50	0.56	0.05	0.14	1.17	0.96
150	22.54	0.48	0.12	0.31	3.84	0.95
200	16.61	0.47	0.16	0.43	6.56	0.95

4.2.2 Bioconversión fermentativa anaerobia con porcinaza

L. acidophilus

En la Figura 4.4 se muestran las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en porcinaza soportada con melaza a diferentes velocidades de agitación. Se observa que los carbohidratos disminuyen rápidamente durante las primeras 12 h, alcanzando una remoción de más del 70% para las pruebas realizadas a 100 y 150 rpm. Debido a que *L. acidophilus* demostró gran afinidad por la porcinaza con melaza, el tiempo del proceso disminuyó y todos los experimentos concluyeron a las 52 h, 20 h antes del tiempo estimado para este tipo de proceso fermentativo. Por otra parte, la producción de AL resultó ser mayor para la cinética a 100

rpm, ya que al final de la bioconversión fermentativa, logró generar 32.44 g/L, mientras que, a 150 y 200 rpm, solamente se alcanzaron 17.02 y 16.02 g/L respectivamente. Sin embargo, estos valores son menores a lo obtenido con *L. acidophilus* en RAC a 100 y 150 rpm. Por último, se menciona que los valores máximos de concentración celular oscilaron entre 7.56 y 7.70 Log (cel/mL) para las tres pruebas.

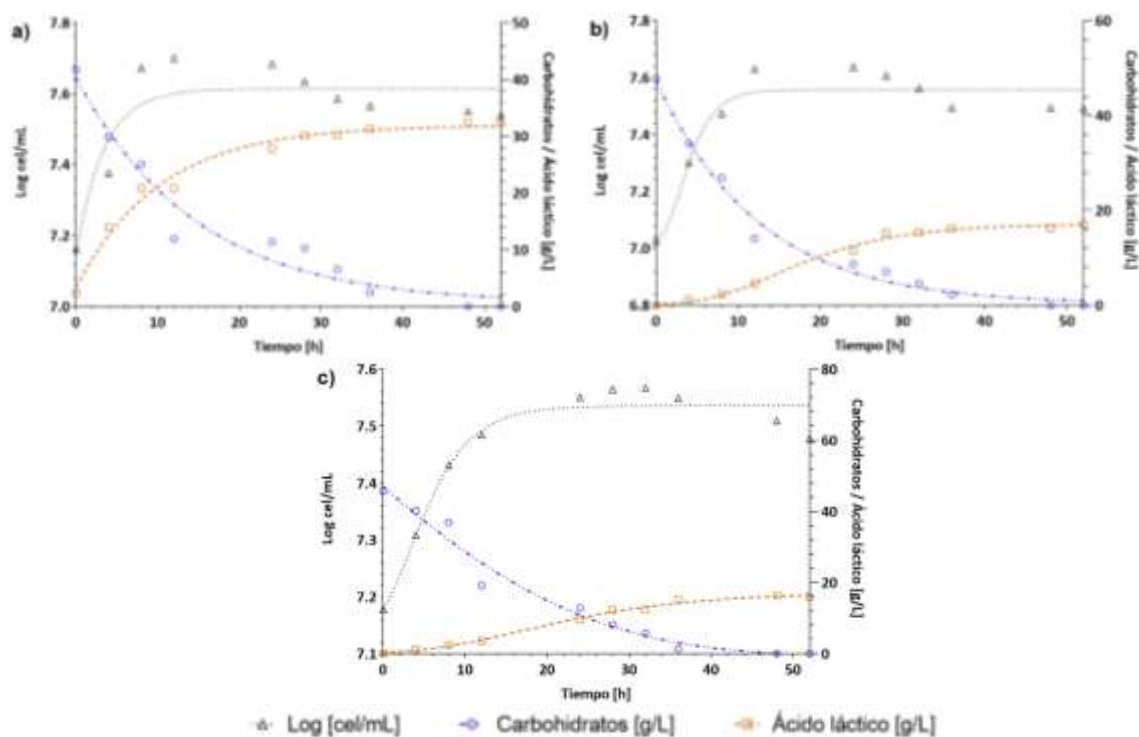


Figura 4.4 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en porcina: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

En la Tabla 4.6 se presentan los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo de gompertz, donde se observa que los valores de μ_{max} y K_s a 100 rpm, fueron de 1.23 h^{-1} y 3.34 g/L respectivamente. Lo cual sugiere que, a esta velocidad de agitación existe mejor intercambio de masa y mayor afinidad por el sustrato, en comparación a las cinéticas de 150 y 200 rpm. El valor de μ_{max} resultó ser mayor a lo reportado para otras especies, es el caso de Wang *et al.*, (2019) quienes evaluaron el crecimiento de *L. rhamnosus* LS-8 en medio sintético y obtuvieron una $\mu_{max} = 0.345 \text{ h}^{-1}$. Por último, se observa que el valor de $\lambda = 3.64 \text{ h}$ alcanzado durante el experimento a 100 rpm, refleja un menor tiempo de adaptación de *L. acidophilus* al residuo porcícola.

Tabla 4.6 Parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en porcinaza

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	32.44	0.78	1.23	3.34	3.64	0.86
150	17.02	0.36	0.17	0.46	3.92	0.91
200	16.04	0.35	0.09	0.25	4.51	0.95

L. fermentum

En la Figura 4.5 se muestran las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en porcinaza soportada con melaza. Se observa que, en las pruebas realizadas a 100 y 200 rpm, la concentración de carbohidratos disminuyó rápidamente durante las primeras 12 h, alcanzando una remoción de más del 50%. Al igual que en las pruebas realizadas con *L. acidophilus* y porcinaza, *L. fermentum* demostró una afinidad similar al sustrato, por lo cual, el proceso fermentativo concluyó a las 52 h. Por otra parte, la generación de AL alcanzó valores de 31.18, 28.44 y 15.54 g/L con rendimientos de 0.68, 0.65 y 0.34 gP/gS con agitación de 100, 150 y 200 rpm respectivamente, valores similares a lo obtenido con *L. fermentum* en RAC. Por último, se mencionan los valores máximos de concentración celular, los cuales fueron de 7.67, 7.54 y 7.45 Log (cel/mL) para a 100, 150 y 200 rpm respectivamente.

En la Tabla 4.7 se presentan los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo de gompertz, donde se observa que para las tres cinéticas, los valores de μ_{max} y K_s son similares, siendo ligeramente mayores los correspondientes al experimento a 100 rpm (0.15 h⁻¹ y 0.41 g/L respectivamente). Estos parámetros indican que al realizar el proceso fermentativo a 100 rpm, existe mejor intercambio de masa en comparación con las pruebas realizadas a 150 y 200 rpm. En este caso, el valor de μ_{max} fue similar a lo reportado por González-Figueroa *et al.*, (2021), quienes evaluaron la densidad celular de *L. plantarum* en melaza y obtuvieron una velocidad máxima de crecimiento de 0.19 h⁻¹. También se observa que *L. fermentum* requiere menor tiempo de adaptación a velocidades de 100 y 150 rpm ($\lambda = 1.13$ y 1.02 h respectivamente), mientras que en el caso del experimento a 200 rpm, el tiempo de

adaptación aumenta hasta $\lambda = 6.21$ h, valor que supera lo obtenido con el mismo microorganismo en RAC.

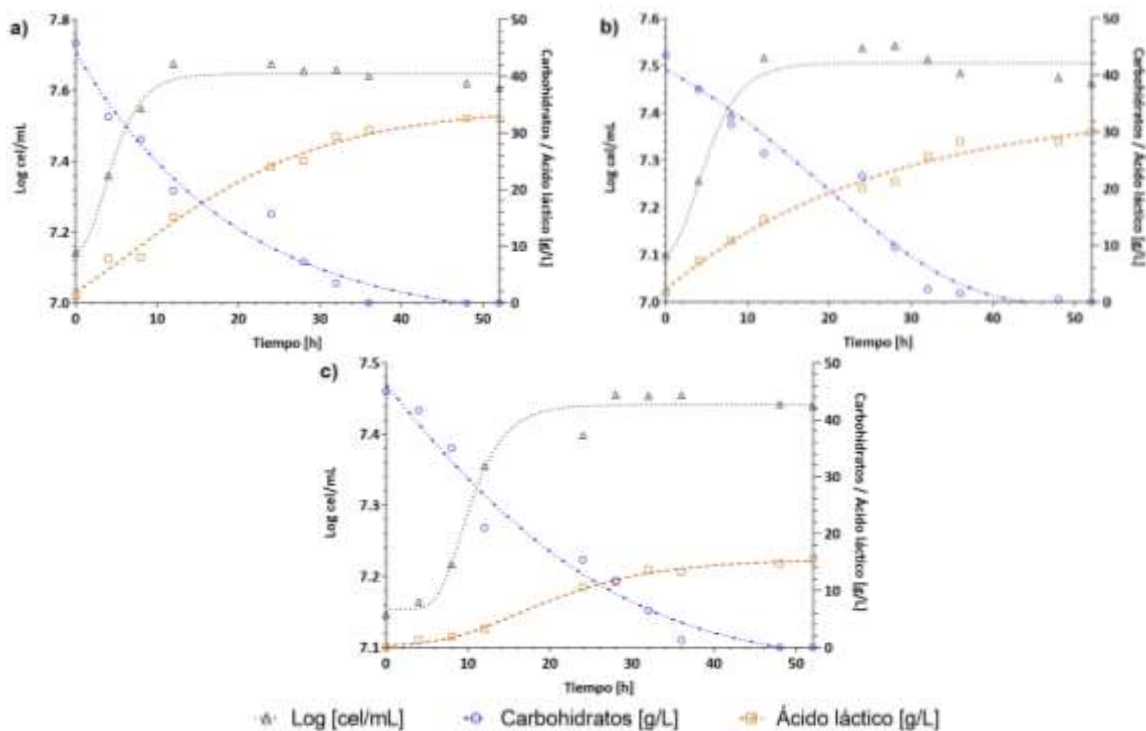


Figura 4.5 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en porcini: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

Tabla 4.7 Parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en porcini

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	31.18	0.68	0.15	0.41	1.13	0.97
150	28.44	0.65	0.13	0.35	1.02	0.96
200	15.54	0.34	0.13	0.34	6.21	0.98

B. subtilis

En la Figura 4.6 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en porcini soportada con melaza. Se observa que, a diferencia de las otras dos especies probióticas, en este caso el consumo de carbohidratos fue más lento, y a las 12 h del proceso la remoción alcanzó valores de 27.24, 27.54 y 16.19% a velocidades de agitación de 100, 150 y 200 rpm

respectivamente, por lo cual, el proceso fermentativo con *B. subtilis* concluyó a las 72 h. En cuanto a la producción de AL, el mayor rendimiento fue de 0.43 gP/gS a 100 rpm, alcanzando una concentración de 20.03 g/L. Este valor fue menor a lo obtenido en RAC a 100 y 150 rpm, con la misma especie probiótica. Por último, se mencionan los valores máximos de concentración celular, los cuales fueron de 7.84, 7.80 y 7.54 Log (cel/mL) para las cinéticas a 100, 150 y 200 rpm respectivamente.

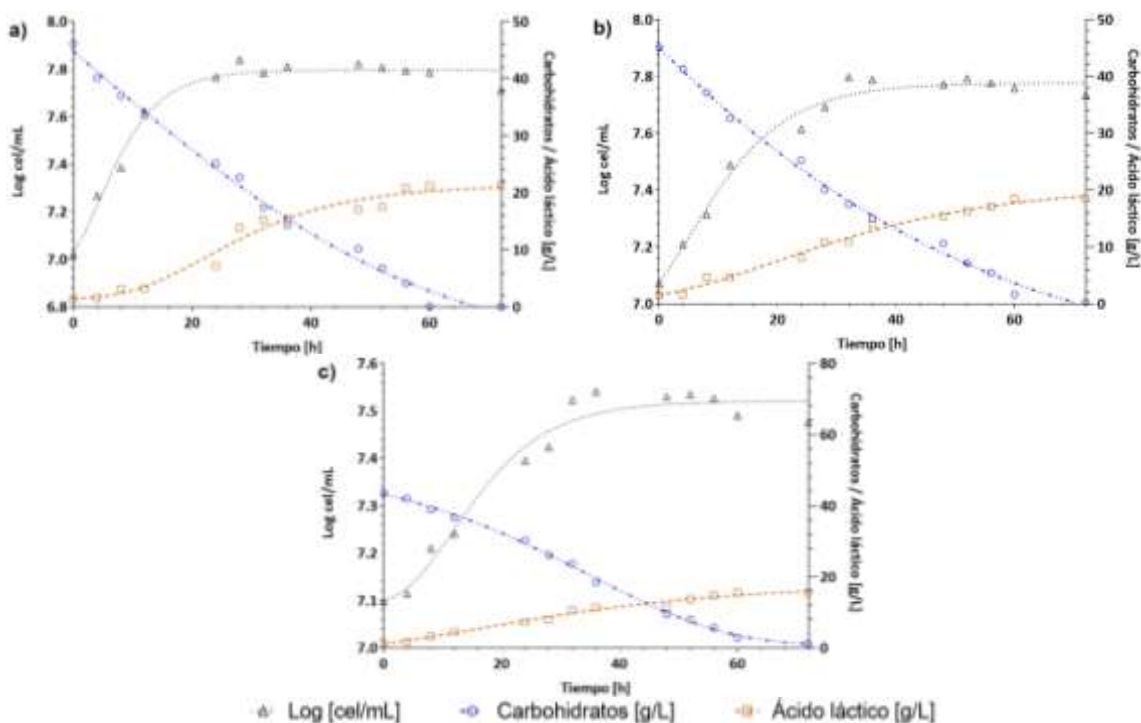


Figura 4.6 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en porcina: a) 100, b) 150 y c) 200 rpm

En la Tabla 4.8 se presentan los parámetros cinéticos obtenidos a partir del modelo de gompertz, donde se observa que, para las tres cinéticas los valores de μ_{max} y K_s resultaron similares, siendo ligeramente mayores los correspondientes al experimento a 100 rpm (0.06 h^{-1} y 0.18 g/L respectivamente). Estos parámetros cinéticos son semejantes a lo reportado por Estrada-García *et al.*, (2023), quienes evaluaron el crecimiento de *L. acidophilus* en porcina a 200 rpm y a partir del modelo logístico obtuvieron valores de $\mu_{max} = 0.06 h^{-1}$ y $K_s = 0.1546 g/L$. También, se observa que *B. subtilis* requiere menor tiempo de adaptación a

100 rpm ($\lambda = 1.39$ h), mientras que para las cinéticas a 150 y 200 rpm el tiempo de lag fue de 3.63 y 3.07 h respectivamente.

Tabla 4.8 Parámetros cinéticos del crecimiento de *B. subtilis* en porcinaza

Experimento [rpm]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
100	20.03	0.43	0.06	0.18	1.39	0.98
150	16.97	0.38	0.04	0.11	3.64	0.98
200	14.27	0.34	0.04	0.11	3.07	0.96

4.2.3 Rendimiento celular y caracterización de biomazas probióticas

Obtención de biomasa a partir de RAC

En la Tabla 4.9 se presentan los rendimientos de las biomazas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con RAC, así como algunos parámetros importantes para su uso posterior. Se observa que el mejor rendimiento celular para *L. acidophilus* y *L. fermentum* se obtuvo en las cinéticas a 150 rpm (0.16 y 0.20 gX/gS respectivamente), mientras que *B. subtilis* se adaptó mejor a 200 rpm (0.19 gX/gS). Por otra parte, la caracterización de las biomazas muestra en la mayoría de los casos, una remoción de carbohidratos de más del 65% respecto al valor inicial. Sin embargo, las concentraciones de carbohidratos en las biomazas (11.42-17.53 g/L), podrían ser adecuadas para que el proceso fermentativo pueda continuar.

Es importante resaltar lo sucedido con el valor de las proteínas, ya que, al inicio del proceso se tenía una concentración de 1.54% y al finalizar el proceso de bioconversión fermentativa anaerobia, se obtuvieron valores entre 6.15 y 7.89%, considerando las tres especies probióticas. Esto sugiere que las biomazas obtenidas a partir de un proceso de bioconversión fermentativa en presencia de *L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*, podrían ser utilizadas como fuente de proteína para suplementar la alimentación del sector ganadero. Además, las biomazas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas, lo que se traduce en beneficio a la salud del huésped.

Tabla 4.9 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con RAC

Probiótico	Agitación [rpm]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [cel/mL]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	0.13	6.4	7.68	1.34 x 10 ⁶
	150	0.16	11.42	7.49	3.10 x 10 ⁶
	200	0.12	1.36	7.28	1.02 x 10 ⁶
<i>Lactobacillus fermentum</i>	100	0.17	12.51	7.16	1.84 x 10 ⁶
	150	0.20	17.53	7.00	1.21 x 10 ⁶
	200	0.19	16.85	6.89	2.46 x 10 ⁶
<i>Bacillus subtilis</i>	100	0.18	14.66	6.29	1.04 x 10 ⁷
	150	0.17	14.07	6.91	2.85 x 10 ⁶
	200	0.19	17.43	6.15	3.16 x 10 ⁶

Obtención de biomasa a partir de Porcinaza

En la Tabla 4.10 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con porcinaza. Para el caso de la especie *L. acidophilus*, se observa que el mayor rendimiento celular se obtuvo a una agitación de 100 rpm (0.18 gX/gS), además, bajo estas condiciones hubo mayor remoción de carbohidratos (0.45 g/L) y el porcentaje de proteínas aumentó con respecto a la concentración en el sustrato inicial (2.84%), alcanzando un valor de 16.48%. En cuanto a la especie *L. fermentum*, presentó mayor rendimiento celular a 150 rpm (0.17 gX/gS), sin embargo, la biomasa obtenida a 100 rpm mostró menor concentración de carbohidratos (0.39 g/L) y mayor cantidad de proteínas (17.05%). Por último, la especie *B. subtilis* alcanzó un mejor rendimiento celular en la cinética con agitación de 200 rpm (0.18 gX/gS), pero la mayor remoción de carbohidratos se obtuvo a 100 rpm (1.08 g/L), mientras que el valor más alto de proteínas se alcanzó en el experimento a 150 rpm (15.86%).

A partir de la información reportada en las Tablas 4.9 y 4.10, se observa que los rendimientos en RAC y porcinaza son similares. Sin embargo, la diferencia entre estos sustratos radica en la caracterización realizada a la biomasa, dado que las biomásas obtenidas a partir de porcinaza, presentan menor concentración de carbohidratos (0.39-3.25 g/L) y mayor contenido de proteínas (14.91-17.05%) respecto a las biomásas obtenidas con RAC. Esto

puede deberse a la naturaleza de los residuos, ya que el RAC posee material lignocelulósico, mientras que la porcina soportada con melaza contiene carbohidratos menos complejos como la sacarosa, lo cual, podría influir en el crecimiento y metabolismo de los probióticos, viéndose reflejado en la calidad nutritiva de las biomásas.

Tabla 4.10 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con porcina

Probiótico	Agitación [rpm]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [Log cel/mL]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	0.18	0.45	16.48	1.45 x 10 ⁶
	150	0.16	1.07	15.11	2.01 x 10 ⁶
	200	0.16	1.39	16.03	1.51 x 10 ⁶
<i>Lactobacillus fermentum</i>	100	0.16	0.38	17.05	1.39 x 10 ⁶
	150	0.17	1.51	16.78	1.25 x 10 ⁶
	200	0.16	1.33	16.38	1.46 x 10 ⁶
<i>Bacillus subtilis</i>	100	0.17	1.08	15.77	1.53 x 10 ⁶
	150	0.17	2.63	15.86	1.62 x 10 ⁶
	200	0.18	3.25	14.91	2.09 x 10 ⁶

4.2.4 Producción final de biomásas probióticas

En la Figura 4.7 se muestra la cantidad de biomasa probiótica obtenida a partir de RAC y porcina. En base a los rendimientos celulares, se eligió la velocidad de agitación que permitió el crecimiento adecuado de *L. acidophilus* (LA), *L. fermentum* (LF) y *B. subtilis* (BS) para cada sustrato.

Para el RAC, se graficaron los valores de biomasa probiótica, correspondientes a LA a 150 rpm, LF a 150 rpm y BS a 200 rpm, los cuales poseen una concentración celular de 2.01 x 10⁶, 1.25 x 10⁶ y 2.09 x 10⁶ Log cel/mL respectivamente. Mientras que para el sustrato de porcina, se graficaron los valores correspondientes a LA a 100 rpm, LF a 150 rpm y BS a 200 rpm, los cuales presentan una concentración celular de 1.45 x 10⁶, 1.25 x 10⁶ y 2.09 x 10⁶ Log cel/mL respectivamente. Estas condiciones de agitación fueron elegidas en base a

los rendimientos celulares, sin embargo, este parámetro no representa la biomasa con mejores condiciones nutricionales.

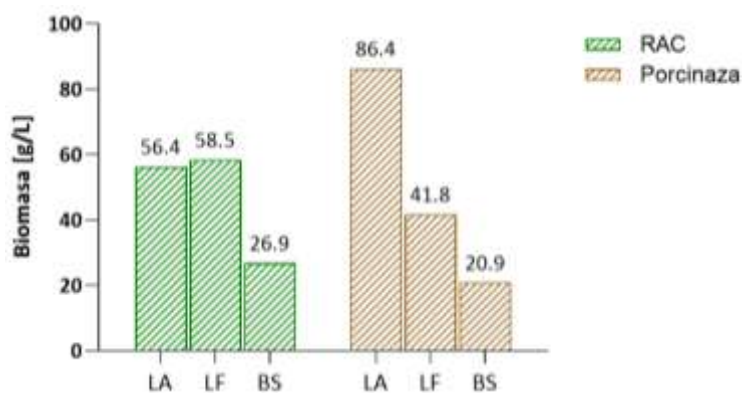


Figura 4.7 Producción de biomasa probiótica a partir de residuos agroindustriales

4.2.5 Análisis de la velocidad de agitación del proceso de bioconversión anaerobia para la obtención de biomasa probiótica

RAC

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0$) y agitación ($p=0.001$), así como la interacción ($p=0$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia con RAC. En la Figura 4.8a se observa que las especies probióticas repercuten en la cantidad de biomasa celular que se genera, esto debido a que, a pesar de pertenecer al grupo de las BAL y utilizar los carbohidratos como principal fuente de carbono, las condiciones de operación del proceso influyen en la ruta metabólica de los microorganismos, por lo cual se justifica que a partir del mismo sustrato se generen variaciones en la cantidad de biomasa.

Por otra parte, la agitación también impacta directamente en el producto obtenido, lo cual se encuentra reportado por Mustafa *et al.*, (2019) quienes mencionan que en procesos fermentativos anaerobios operados a velocidades elevadas, puede ocurrir lisis celular. En la Figura 4.8b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de RAC, se debe utilizar la especie *L.*

fermentum y operar el reactor a la velocidad de agitación de 150 rpm, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.9.

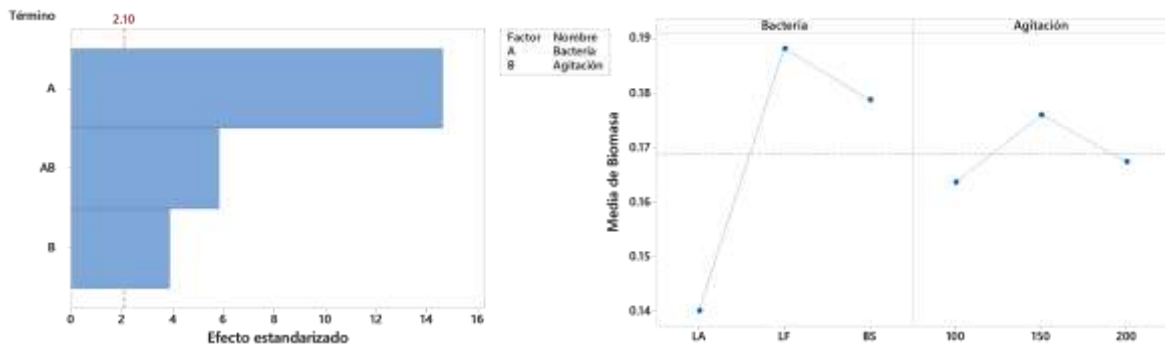


Figura 4.8 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con RAC

Porcinaza

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0.644$) y agitación ($p=0.201$) no son significativos al evaluarlos de forma individual, sin embargo, al realizar el análisis de la interacción entre dichos factores, se obtiene una $p=0.025$, lo cual indica que la interacción tiene un efecto significativo sobre la generación de biomasa obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia con porcinaza. En la Figura 4.9a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa y en la Figura 4.9b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que para obtener mayor producción de biomasa a partir de porcinaza, se debe utilizar la especie *L. acidophilus* y operar el reactor a la velocidad de agitación de 100 rpm.

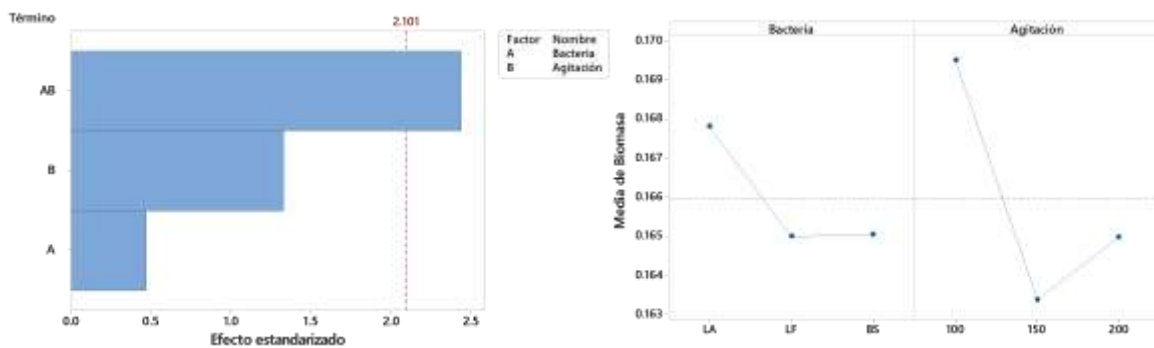


Figura 4.9 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con porcinaza

Los análisis estadísticos de RAC y porcinaza, permiten corroborar la información obtenida en las Tablas 4.9 y 4.10, donde a partir de los rendimientos de biomasa, se determinó la velocidad de agitación adecuada para el proceso de bioconversión, así como la especie probiótica conveniente para cada residuo.

4.3 Cinéticas de crecimiento de especies probióticas. Etapa 2: evaluación del porcentaje de inóculo

Como segunda etapa para determinar las condiciones de operación recomendables para el proceso de bioconversión anaerobia, se optó por evaluar el porcentaje de inóculo presente en la fermentación, utilizando seis residuos agroindustriales (RAC, olote, pergamino, pollinaza, residuo bovino y porcinaza), en presencia de tres especies probióticas (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*).

Es importante mencionar que, en algunos experimentos, los rendimientos de AL presentan valores >1 , esto se debe a que hay sustratos que tienden a la acidez, por lo cual, al realizar la determinación correspondiente a la muestra inicial, se encuentra un valor distinto a cero. De igual forma, la ruta metabólica de los microorganismos, influye en este parámetro, pues se sabe que las BAL también producen ácido acético, succínico, fórmico, pirúvico, entre otros (Wang *et al.*, 2021). Para los rendimientos de biomasa celular, también se obtuvieron algunos valores >1 , esto puede ser debido a que, a pesar de que los carbohidratos son la principal fuente de carbono para las BAL, éstas también son capaces de hidrolizar proteínas y obtener aminoácidos libres para la síntesis de sus propias proteínas y su crecimiento (Kieliszek *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021).

4.3.1 Bioconversión fermentativa anaerobia con residuos agrícolas

Residuo agro cañero (RAC)

En la Figura 4.10 se muestran las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en RAC a diferentes concentraciones de inóculo. Se observa que durante las primeras 24 h el consumo de carbohidratos fue de 37.21, 45.20 y 39.74% para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Sin embargo, el sustrato no llegó a consumirse por completo en ninguno de

los experimentos. Por otra parte, la producción de AL se incrementa de manera acelerada durante las cinéticas con 10 y 15% de inóculo, alcanzando concentraciones finales de 17.50 y 16.50 g/L, con una productividad de 0.24 y 0.23 g/Lh respectivamente. Mientras que en la prueba con 5% de inóculo, solo se obtuvieron 9.50 g/L al concluir las 72 h. En cuanto a los valores máximos de concentración celular se reportan 7.79, 7.85 y 7.86 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

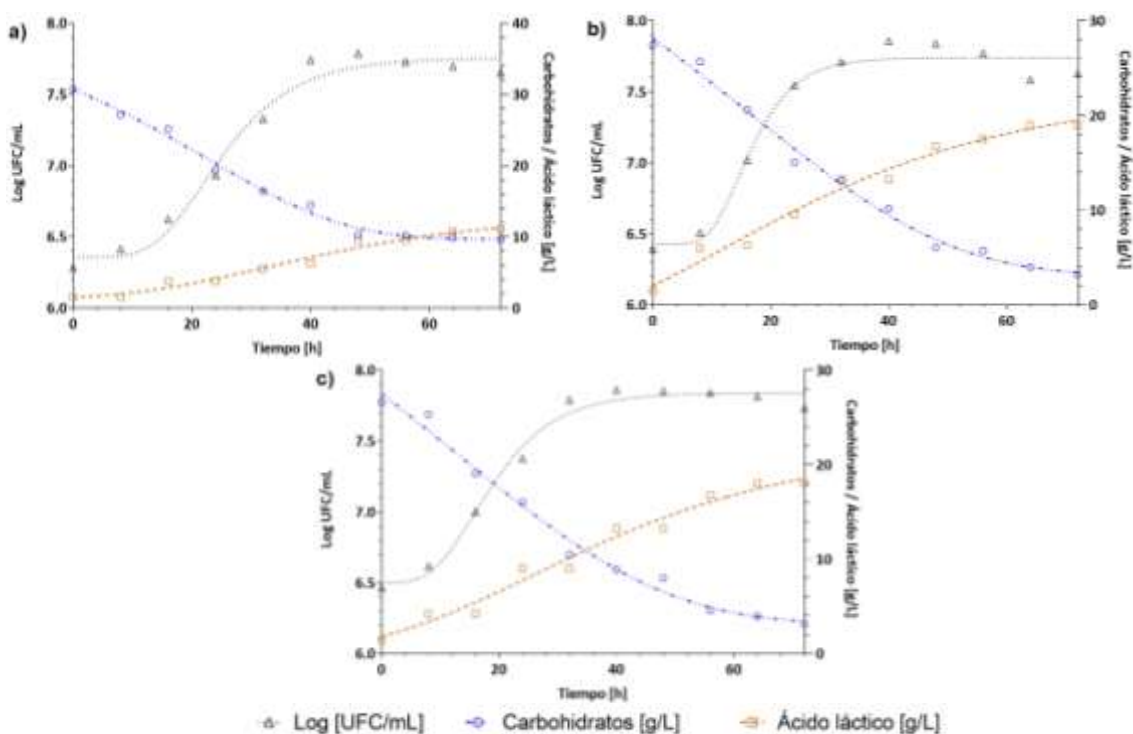


Figura 4.10 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Tabla 4.11 se presentan los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en RAC, donde se observa que el valor más alto para la velocidad máxima de crecimiento, se obtuvo con 10% de inóculo (0.07 h^{-1}) y a esta misma concentración, la K_s fue de 0.20 g/L. Esto significa que, bajo estas condiciones existe mayor afinidad de *L. acidophilus* en el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 15%, lo cual concuerda con los datos experimentales, ya que al utilizar inóculo al 10%, se consumió mayor cantidad de carbohidratos.

Las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en RAC, se muestran en la Figura 4.11. Se observa que el consumo de carbohidratos fue similar en los tres experimentos, ya que, a las 24 h se habían consumido 21.37, 22.13 y 23.39% en las pruebas con 5, 10 y 15% de inóculo respectivamente. En cuanto a la producción de AL, se observa un incremento acelerado en concentraciones con 10 y 15% de inóculo, alcanzando valores de 14.75 y 15.25 g/L con rendimientos de 0.67 y 0.65 gP/gS respectivamente. Mientras que en la cinética con 5% de inóculo, sólo se obtuvieron 11.25 g/L. Por otra parte, los valores máximos de concentración celular fueron de 7.45, 7.94 y 7.97 Log UFC/mL para 5, 10 y 15% de inóculo respectivamente.

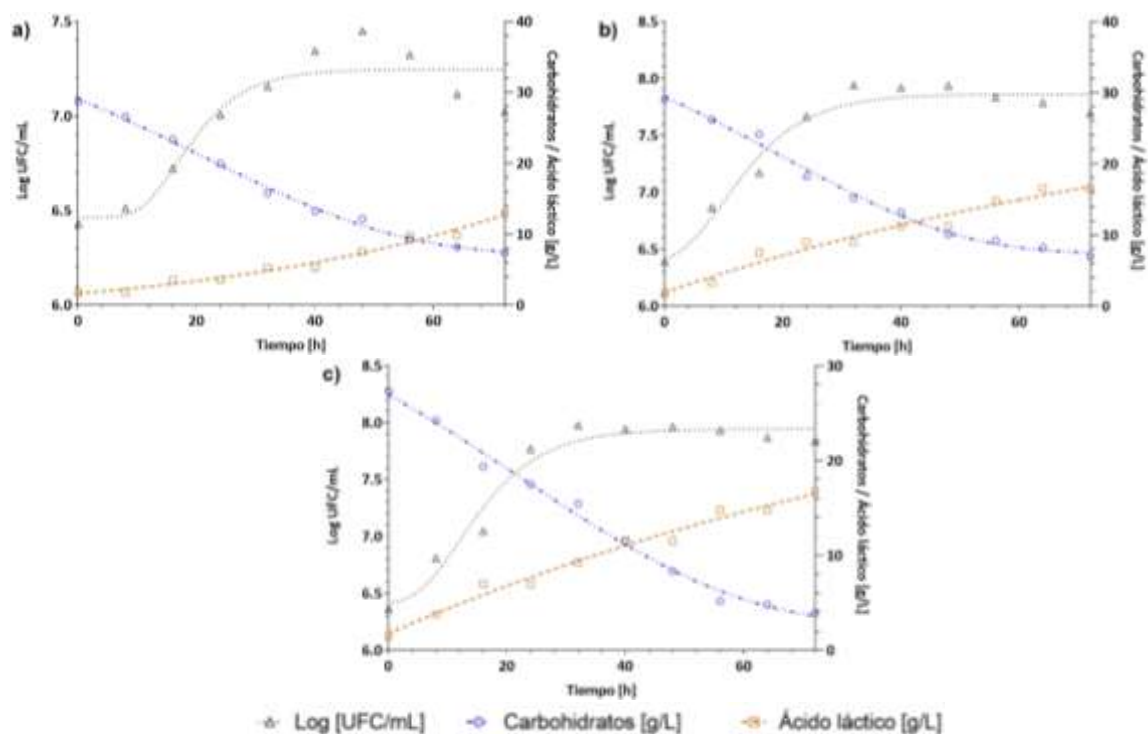


Figura 4.11 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en RAC (ver Tabla 4.11), se observa que los valores de μ_{max} y K_S , son similares para los tres casos de estudio, sin embargo, los resultados con 5% de inóculo son ligeramente mayores ($\mu_{max} = 0.06 \text{ h}^{-1}$ y $K_S = 0.16 \text{ g/L}$), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *L. fermentum* y el sustrato,

en comparación a las concentraciones de 10 y 15% de inóculo. No obstante, el tiempo de lag más bajo se obtuvo en la cinética con 10% de inóculo.

En la Figura 4.12 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en RAC a diferentes concentraciones de inóculo. Se observa que en el experimento con 5% de inóculo, la remoción de carbohidratos durante las primeras 8 h, fue más lenta en comparación a las concentraciones de 10 y 15% de inóculo. Sin embargo, al término de las 72 horas, el inóculo de 5% resultó ser el que consumió mayor cantidad de carbohidratos (53.03%). Por otra parte, la producción de AL fue la misma en los tres casos de estudio (11.25 g/L), pero el mejor rendimiento fue de 1.61 gP/gS en la cinética con 15% de inóculo. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos fueron de 4.91, 4.86 y 4.92 Log UFC/mL para 5, 10 y 15% de inóculo respectivamente.

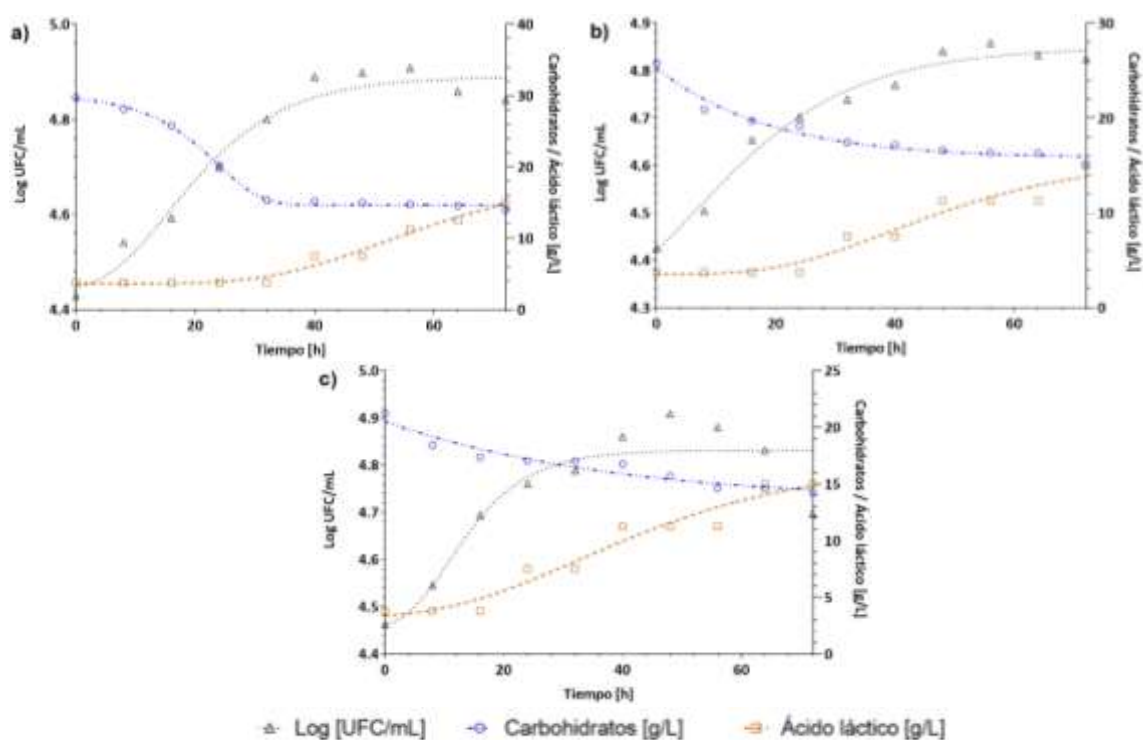


Figura 4.12 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en RAC: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Los parámetros cinéticos de *B. subtilis* en RAC (ver Tabla 4.11) muestran que con 15% de inóculo existe mejor afinidad entre los microorganismos probióticos y el sustrato, reportando

una velocidad máxima de crecimiento de 0.05 h^{-1} y $K_s = 0.14 \text{ g/L}$. De igual forma, el menor tiempo de adaptación ocurrió en esta concentración, al obtener un valor de $\lambda = 3.38 \text{ h}$.

Tabla 4.11 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en RAC

Probiótico	Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	9.50	0.87	0.04	0.12	13.41	0.98
	10	17.50	1.36	0.07	0.20	9.55	0.97
	15	16.50	1.57	0.05	0.14	8.53	0.99
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	11.25	0.53	0.06	0.16	10.53	0.88
	10	14.75	0.67	0.05	0.13	2.47	0.96
	15	15.25	0.65	0.05	0.13	4.69	0.96
<i>Bacillus subtilis</i>	5	11.25	0.71	0.03	0.09	4.98	0.96
	10	11.25	1.05	0.02	0.07	8.17	0.98
	15	11.25	1.61	0.05	0.14	3.38	0.85

Residuo de maíz blanco (olote)

En la Figura 4.13 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en olote a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar 10% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 54.10% respecto a la concentración inicial. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos, pues solamente removió el 32.48%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 4.50 g/L en los experimentos que se utilizaron 5 y 15% de inóculo, los cuales tuvieron un rendimiento de 1.16 y 0.94 gP/gS respectivamente. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.46 gP/gS y una concentración de 3.38 g/L de AL. Estas concentraciones son semejantes a las reportadas por Vera Mejía *et al.*, (2021) quienes obtuvieron una concentración de 3.28 g/L de AL al utilizar la bacteria *L. plantarum* en un medio conformado por melaza de caña, suero de leche y levadura. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 10.90, 10.87 y 10.88 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

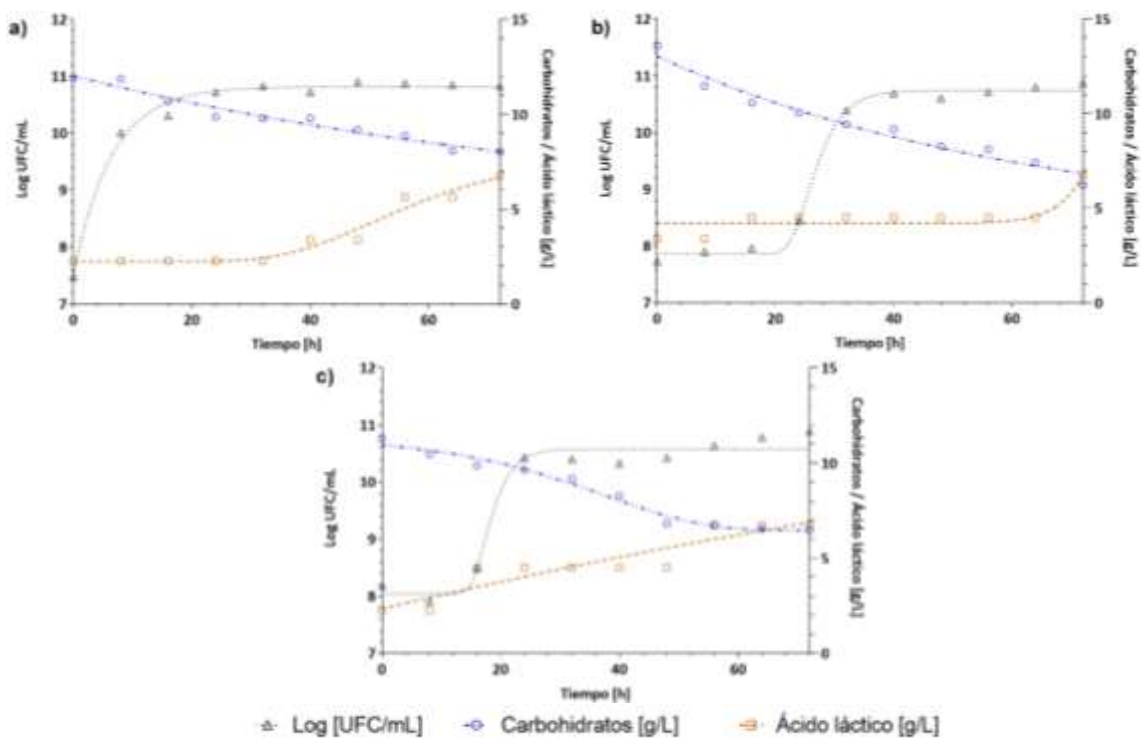


Figura 4.13 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Tabla 4.12 se presentan los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en olote. Los mejores resultados se obtuvieron en el experimento con 15% de inóculo, ya que la tasa de crecimiento máximo fue de 0.17 h^{-1} y el valor de la constante K_s fue de 0.41 g/L , esto quiere decir que al utilizar *L. acidophilus* en esta concentración, los microorganismos presentan gran afinidad por el sustrato limitante. Sin embargo, el menor tiempo de acondicionamiento para esta especie probiótica, se obtuvo en la cinética con 5% de inóculo, siendo $\lambda = 9.66 \text{ h}$.

Tabla 4.12 Parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en olote

Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h ⁻¹]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
5	4.50	1.16	0.06	0.16	9.66	0.99
10	3.38	0.46	0.11	0.31	22.28	0.99
15	4.50	0.94	0.17	0.41	17.89	0.97

En la Figura 4.14 se presentan los experimentos realizados con *L. fermentum* en olote a diferentes concentraciones de inóculo. Se observa que la remoción de carbohidratos fue muy baja con respecto a lo obtenido con *L. acidophilus*, pues en este caso y al cabo de 72 h solamente se consumieron 28.33, 26.81 y 28.98% de carbohidratos en los experimentos con 5, 10 y 15% de inóculo respectivamente. En cuanto a la producción de AL, las cinéticas con 5 y 10% de inóculo alcanzaron una concentración de 7.88 g/L y rendimientos de 2.99 y 3.17 gP/gS respectivamente. Mientras que la concentración máxima reportada fue de 10.13 g/L en el experimento con 15% de inóculo, donde se obtuvo un rendimiento de 3.92 gP/gS. Los valores de AL alcanzados con los diferentes porcentajes de inóculo, son inferiores a lo citado por Abedi y Hashemi (2020), quienes reportan concentraciones de 18 g/L con la bacteria *L. delbrueckii* sp. *Bulgaricus* CICC2111 y 20.95 g/L con la mezcla de *L. rhamnosus*-*L. brevis*, ambos en un proceso fermentativo a partir de rastrojo de maíz. A pesar de que existió cierta remoción de carbohidratos y producción de AL, *L. fermentum* no logró crecer en el sustrato de olote, como se observa en la Figura 4.14, la concentración celular se mantuvo alrededor de 40 h y posteriormente comenzó a disminuir, por esta razón no se presentan parámetros cinéticos, pues no existió crecimiento celular.

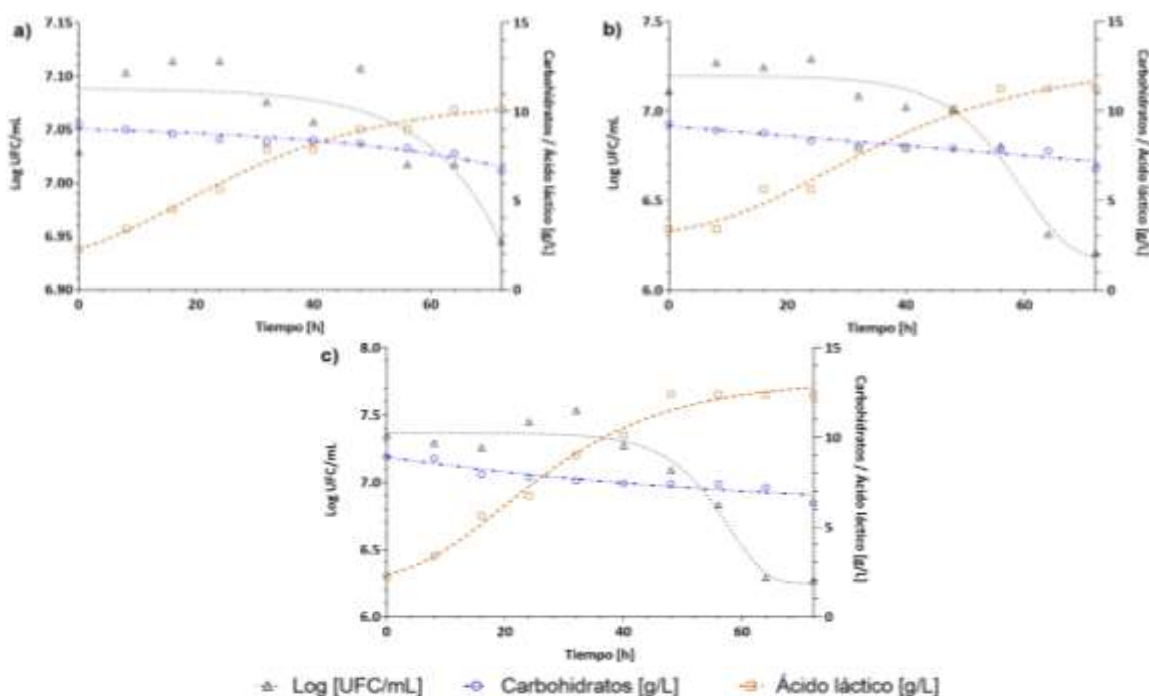


Figura 4.14 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Figura 4.15 se presentan los experimentos realizados con *B. subtilis* en olote a diferentes concentraciones de inóculo. Se observa que el consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 59.03% respecto a la concentración inicial. Mientras que los experimentos con 5 y 10% de inóculo, presentaron valores de remoción similares (45.68 y 43.08% respectivamente). En cuanto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 6.75 g/L con 10% de inóculo y un rendimiento de 1.20 gP/gS. En cambio, la concentración de AL obtenida a 5 y 15% de inóculo, fue de 4.50 g/L en ambos casos, con rendimientos de 0.76 y 0.63 gP/gS respectivamente. Los rendimientos obtenidos son similares a lo reportado por Jiang *et al.*, (2019) quienes alcanzaron un rendimiento de 0.85 gAL/gS durante la fermentación anaerobia de mazorcas de maíz, utilizando *B. coagulans*. De manera similar a lo ocurrido con *L. fermentum*, *B. subtilis* tampoco logró crecer en el sustrato de olote, sin embargo, en este caso el decrecimiento celular comenzó casi de forma inmediata, por esta razón no se presentan parámetros cinéticos, ya que no existió crecimiento celular.

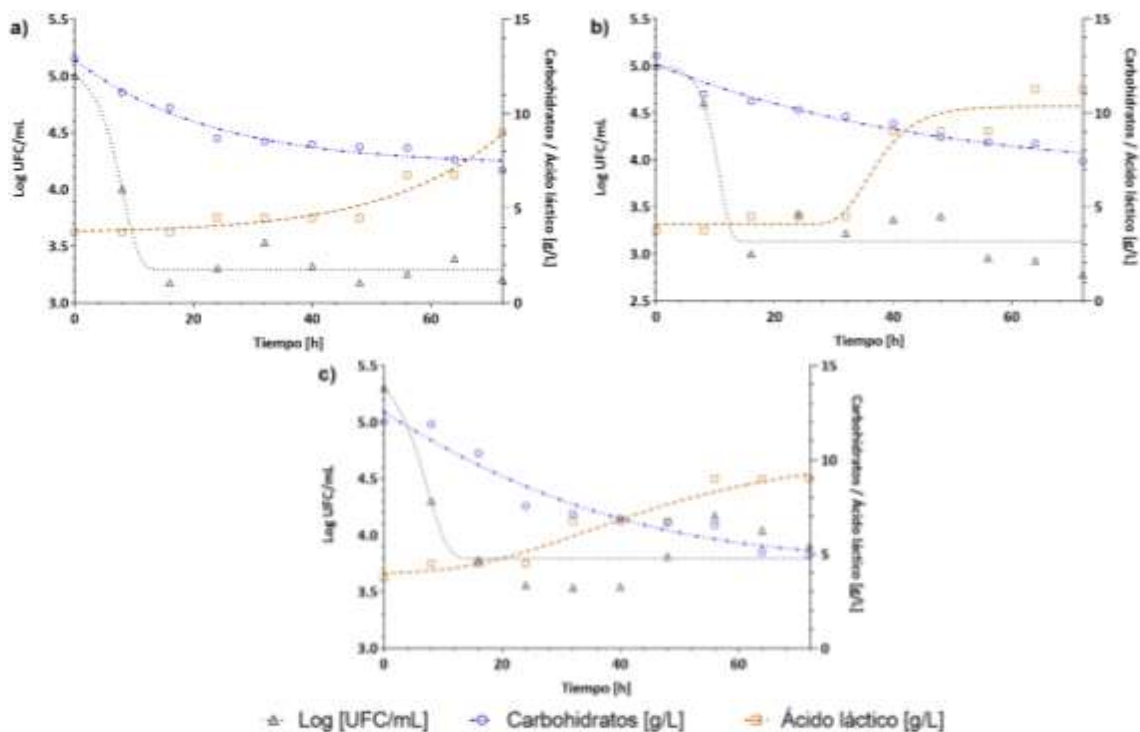


Figura 4.15 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en olote: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

El comportamiento presentado por *L. fermentum* y *B. subtilis* en el sustrato de olote, podría deberse a la concentración celular inicial, pues se observa que en el caso de *L. acidophilus* se adicionaron entre 7.48 y 8.18 Log UFC/mL, mientras que para la *L. fermentum* y *B. subtilis* se utilizaron concentraciones de 7.03-7.34 y 5.00-5.31 Log UFC/mL respectivamente. Otro factor importante podría ser el tipo de microorganismo o su fuente (cepa pura o no pura), pues Wang *et al.*, (2021) mencionan que el origen de la cepa puede influir en el proceso de biotransformación, ya que al realizar una fermentación láctica y evaluar el crecimiento de *L. pentosus*, obtuvo mayor concentración celular al utilizar la cepa pura en comparación con microorganismos inmovilizados en cepas comerciales.

Residuo de café (pergamino)

En la Figura 4. 16 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en pergamino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se había removido 73.74% respecto a la concentración inicial. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 63.10%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 8.40 g/L en el experimento con 15% de inóculo, con un rendimiento de 0.41 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.27 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (4.50 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.70, 8.18 y 8.37 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

En la Tabla 4.13 se presentan los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en pergamino, donde se observa que el valor más alto para la velocidad máxima de crecimiento, se obtuvo con 15% de inóculo (0.03 h^{-1}) y a esta misma concentración, la K_s fue de 0.08 g/L. Esto significa que, bajo estas condiciones existe mejor afinidad de *L. acidophilus* en el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 10%. Además, también al utilizar la 15% de inóculo se obtuvo el menor tiempo de lag ($\lambda = 2.47 \text{ h}$). Caso contrario a lo reportado en los experimentos con 5 y 10% de inóculo, donde los valores de λ se elevan a más del doble (6.97 y 9.05 h respectivamente).

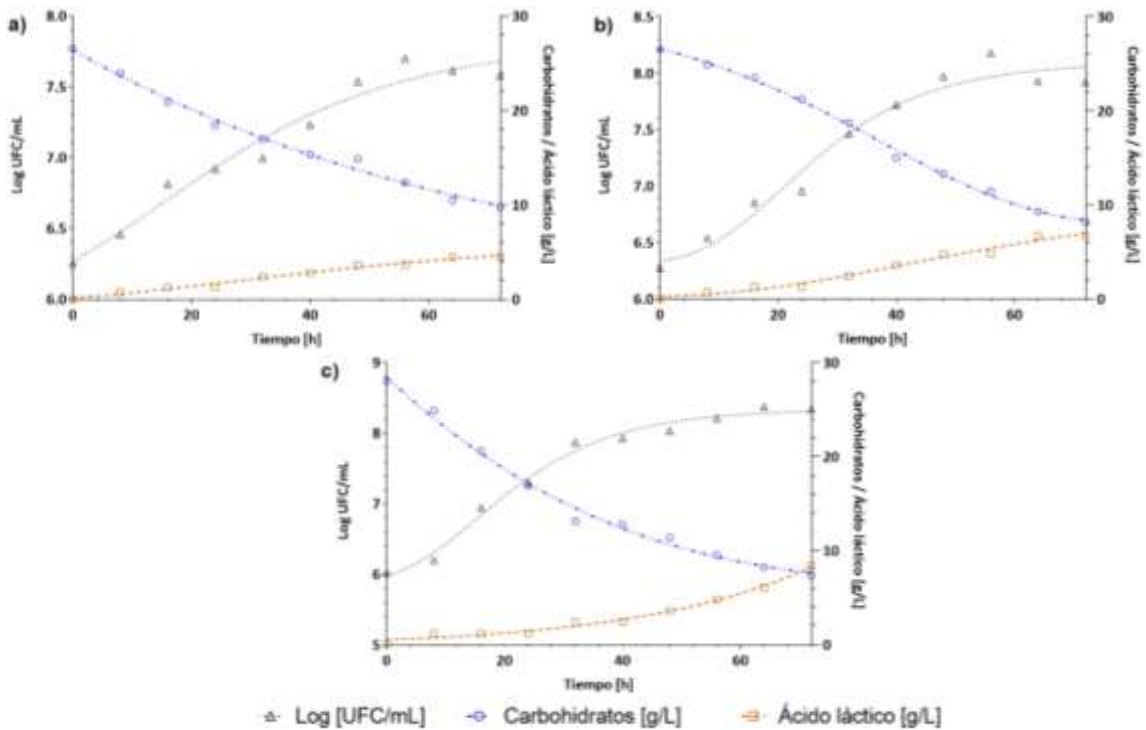


Figura 4.16 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Figura 4. 17 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en pergamino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 70.12% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 63.25%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 2.25 g/L en los experimentos con 5 y 15% de inóculo, con rendimientos de 0.14 y 0.12 gP/gS respectivamente. Mientras que con 10% de inóculo, el rendimiento fue de 0.12 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (2 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.49, 7.98 y 8.37 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en pergamino (ver Tabla 4.13), se observa que los valores de μ_{max} y K_s , son similares para los tres casos de estudio, sin embargo, los resultados con 15% de inóculo son ligeramente mayores ($\mu_{max} = 0.05 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.14 \text{ g/L}$), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *L. fermentum* y el

sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 10% de inóculo. No obstante, el tiempo de lag más bajo se obtuvo en la cinética con 5% de inóculo ($\lambda = 17.98$ h).

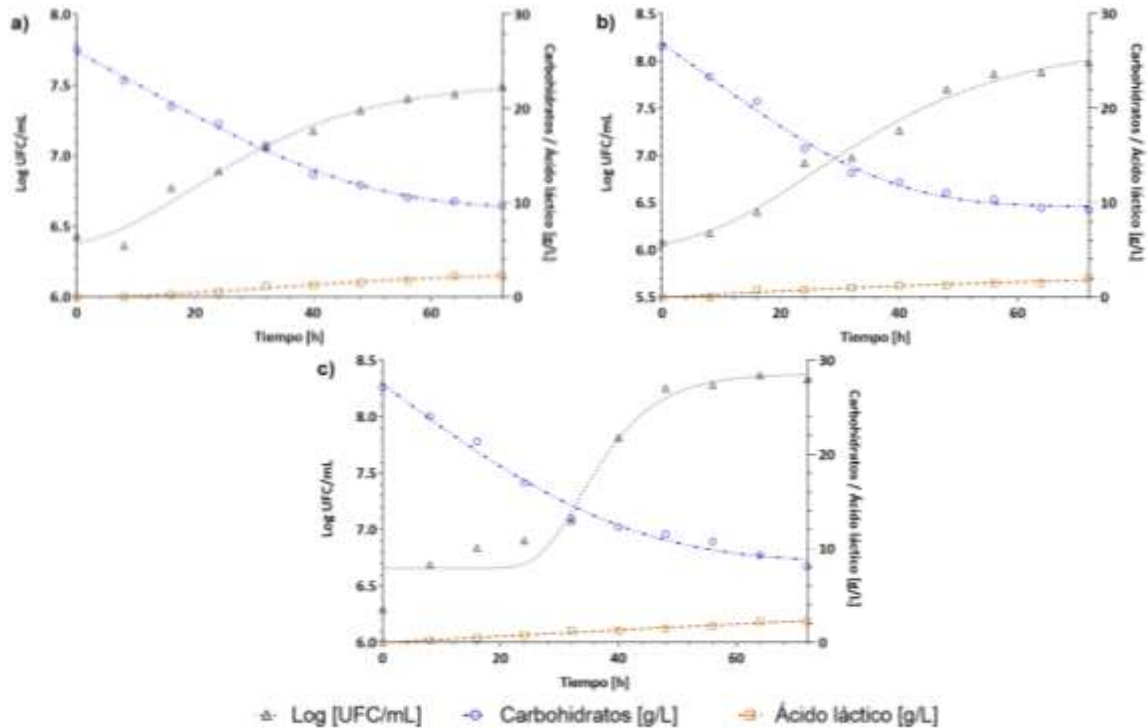


Figura 4.17 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Figura 4. 18 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en pergamino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 84.48% respecto a la concentración inicial. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 72.70%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 84.75 g/L en el experimento con 15% de inóculo, con un rendimiento de 0.21 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.17 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (3.25 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 6.80, 8.43 y 8.45 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Los parámetros cinéticos de *B. subtilis* en pergamino (ver Tabla 4.13) muestran que con 15% de inóculo existe mejor afinidad entre los microorganismos probióticos y el sustrato, reportando una velocidad

máxima de crecimiento de 0.13 h^{-1} y $K_s = 0.34 \text{ g/L}$. No obstante, el tiempo de lag más bajo se obtuvo en la cinética con 10% de inóculo ($\lambda = 20.49 \text{ h}$).

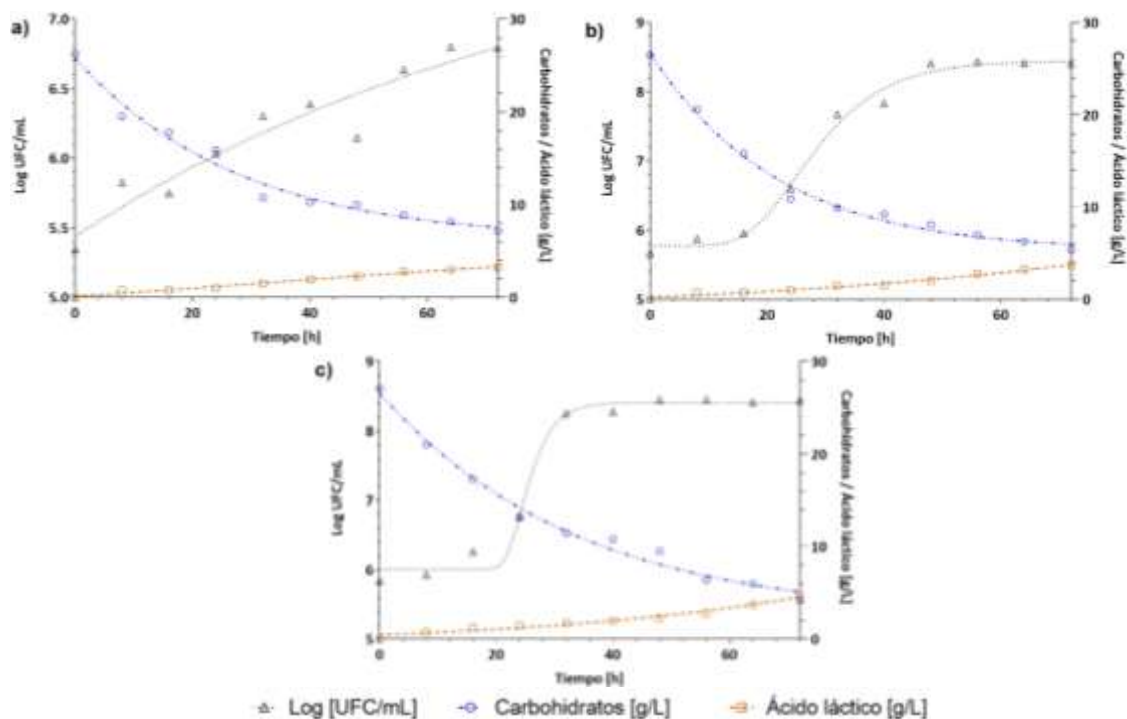


Figura 4.18 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en pergamino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Tabla 4.13 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en pergamino

Probiótico	Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	4.50	0.27	0.02	0.04	9.05	0.96
	10	6.75	0.37	0.03	0.07	6.97	0.97
	15	8.40	0.41	0.03	0.08	2.47	0.99
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	2.25	0.14	0.02	0.06	17.98	0.97
	10	2.00	0.12	0.02	0.05	20.95	0.98
	15	2.25	0.12	0.05	0.14	26.39	0.96
<i>Bacillus subtilis</i>	5	3.25	0.17	0.004	0.01	25.33	0.91
	10	3.75	0.18	0.04	0.12	20.49	0.99
	15	4.75	0.21	0.13	0.34	21.44	0.99

4.3.2 Bioconversión fermentativa anaerobia con residuos ganaderos

Residuo de la industria avícola (pollinaza)

En la Figura 4. 19 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en pollinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 58.78% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 35.88%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 8.50 g/L en el experimento con 15% de inóculo, con un rendimiento de 1.09 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 1.06 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (5.50 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.79, 7.80 y 8.42 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

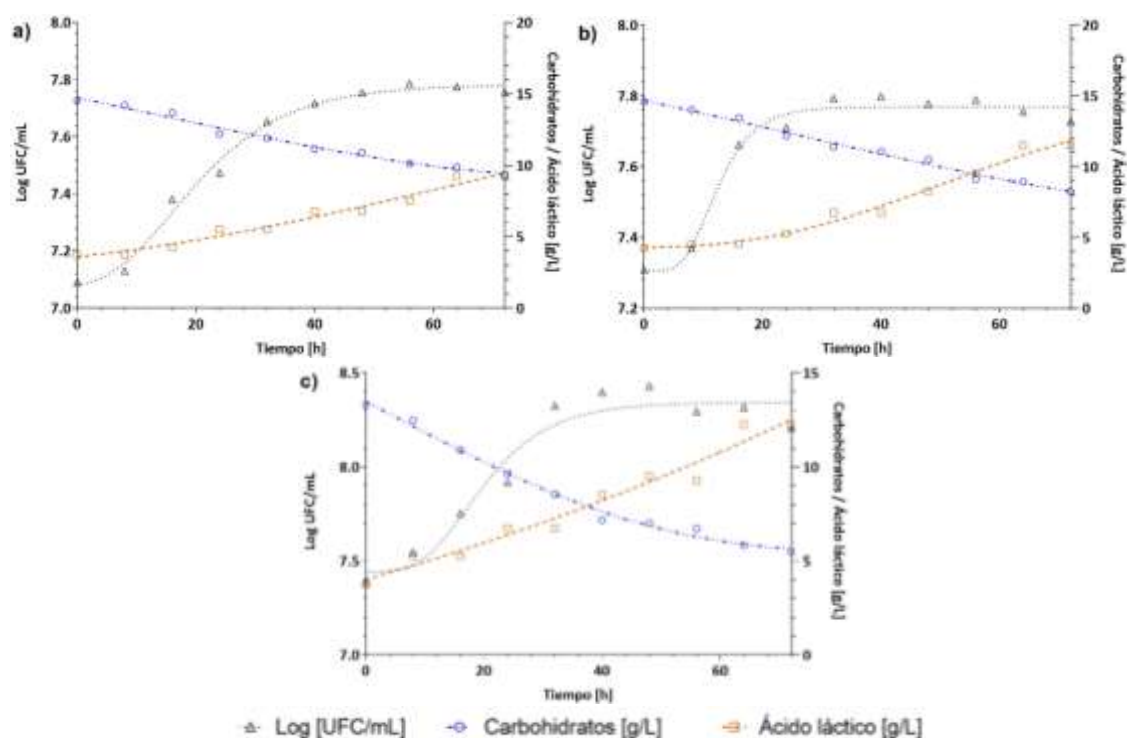


Figura 4.19 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Tabla 4.14 se presentan los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en pollinaza, donde se observa que el valor más alto para la velocidad máxima de crecimiento,

se obtuvo con 10% de inóculo (0.09 h^{-1}) y a esta misma concentración, la K_s fue de 0.23 g/L . Esto significa que, bajo estas condiciones existe mayor afinidad de *L. acidophilus* en el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 15%.

En la Figura 4.20 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en pollinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 47.06% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 10% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 43.80%. Respecto a la producción de AL, la concentración obtenida fue de 9.00 g/L en los experimentos con 5, 10 y 15% de inóculo, con rendimientos de 1.50, 1.56 y 1.42 gP/gS respectivamente. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.79, 7.84 y 6.95 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. En la Tabla 4.11 se presentan los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en pollinaza, donde se observa que el valor más alto para la velocidad máxima de crecimiento, se obtuvo con 15% de inóculo (0.05 h^{-1}) y a esta misma concentración, la K_s fue de 0.12 g/L . Esto significa que, bajo estas condiciones existe mayor afinidad de *L. fermentum* en el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 10%. De igual forma, el valor de $\lambda = 1.04 \text{ h}$ a 15% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con la pollinaza.

En la Figura 4.21 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en pollinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 83.50% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 44.35%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 8.10 g/L en el experimento con 10% de inóculo y un rendimiento de 0.70 gP/gS . Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.75 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (4.50 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 8.03, 8.14 y 8.60 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

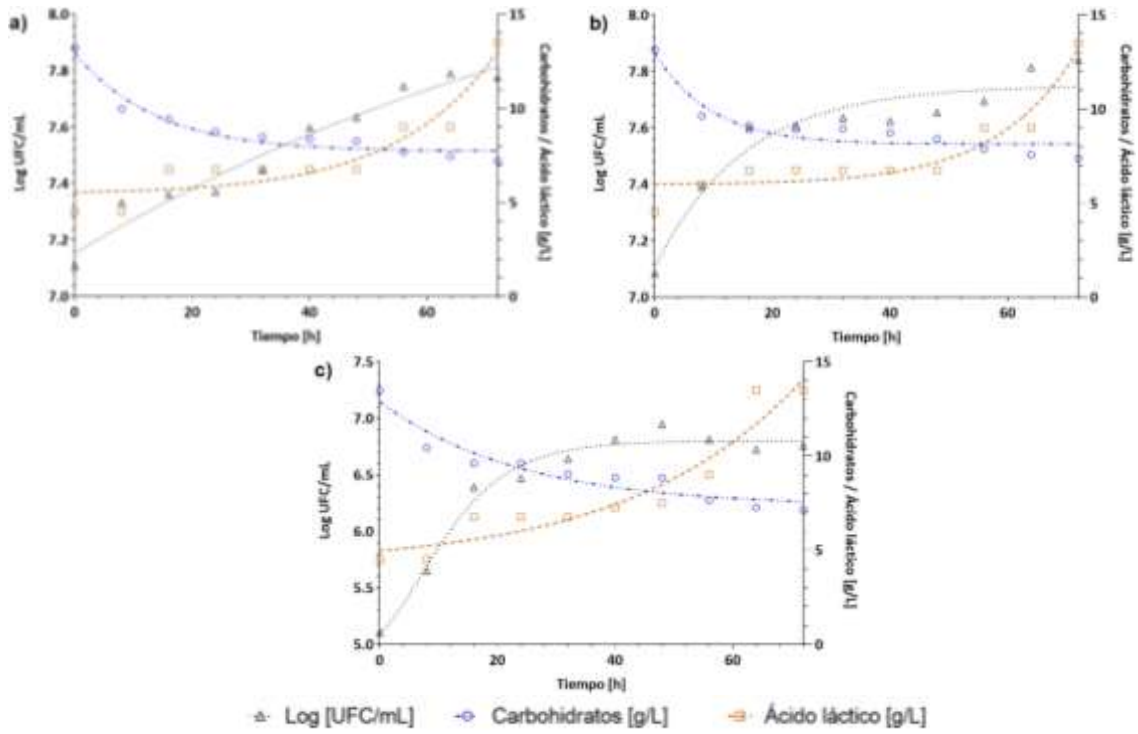


Figura 4.20 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

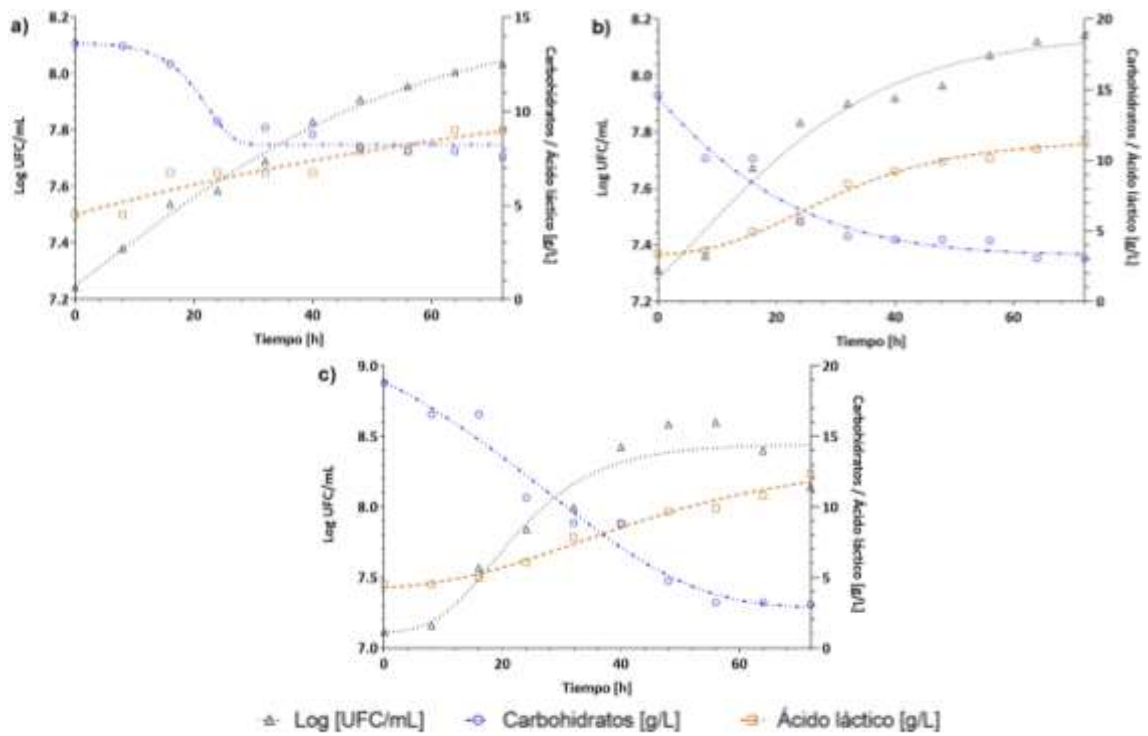


Figura 4.21 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en pollinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *B. subtilis* en pollinaza (ver Tabla 4.14), los resultados con 15% de inóculo son ligeramente mayores ($\mu_{max} = 0.04 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.10 \text{ g/L}$), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *B. subtilis* y el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 10% de inóculo. De igual forma, el valor de $\lambda = 8.65 \text{ h}$ a 15% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con la pollinaza.

Tabla 4.14 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en pollinaza

Probiótico	Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	5.50	1.06	0.03	0.10	5.45	0.99
	10	7.25	1.14	0.09	0.23	6.52	0.98
	15	8.50	1.09	0.05	0.13	9.38	0.94
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	9.00	1.50	0.004	0.01	6.02	0.95
	10	9.00	1.56	0.02	0.07	7.32	0.91
	15	9.00	1.42	0.05	0.12	1.04	0.97
<i>Bacillus subtilis</i>	5	4.50	0.75	0.01	0.03	26.18	0.99
	10	8.10	0.70	0.02	0.05	11.94	0.96
	15	7.88	0.50	0.04	0.10	8.65	0.92

Residuo de origen bovino

En la Figura 4.22 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en residuo bovino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 5% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 98.19% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 15% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 83.84%. Respecto a la producción de AL, la concentración obtenida fue de 9.00 g/L en los experimentos con 5, 10 y 15% de inóculo, con rendimientos de 0.69, 0.71 y 0.66 gP/gS respectivamente. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 6.74, 9.17 y 6.99 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en residuo bovino (ver Tabla 4.15), los mejores resultados se obtuvieron con 10% de inóculo ($\mu_{max} = 0.17 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.46 \text{ g/L}$), lo que indica

que existe una mejor afinidad entre *L. acidophilus* y el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 15% de inóculo. No obstante, el tiempo de lag más bajo se obtuvo en la cinética con 15% de inóculo ($\lambda = 5.69$ h).

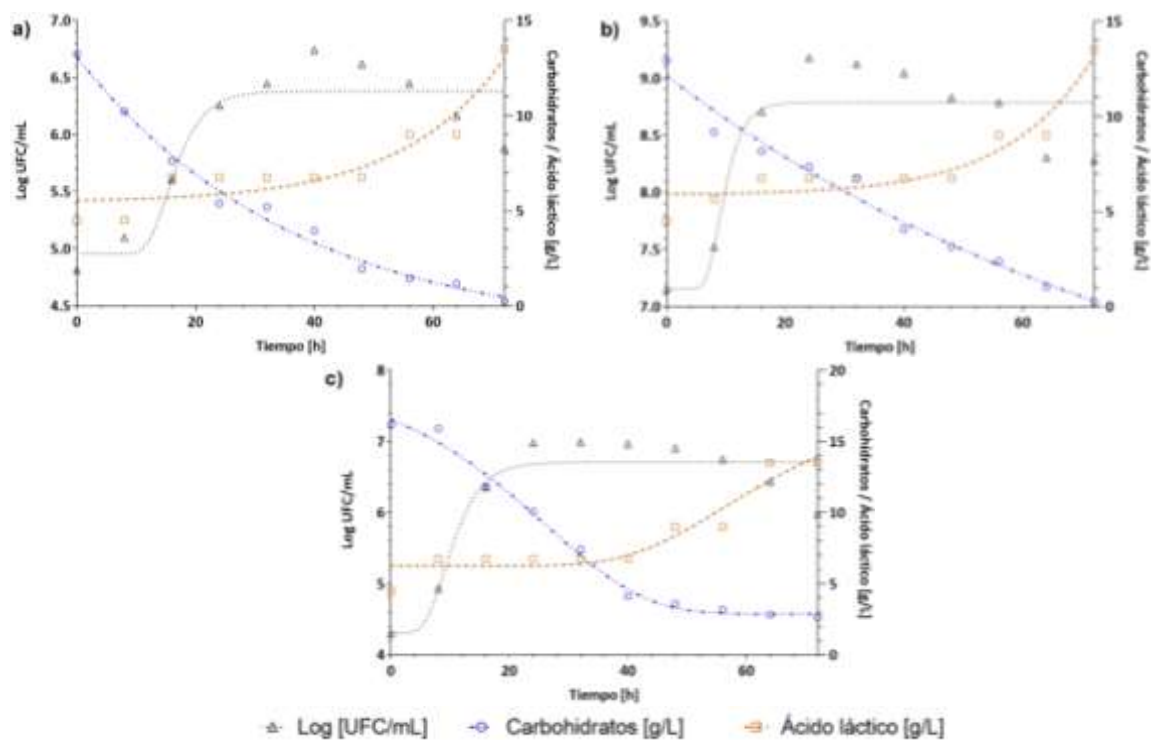


Figura 4.22 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Figura 4.23 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en residuo bovino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 86.18% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 69.16%. Respecto a la producción de AL, la concentración obtenida fue de 9.00 g/L en los experimentos con 5, 10 y 15% de inóculo, con rendimientos de 1.02, 0.89 y 0.73 gP/gS respectivamente. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.52, 8.34 y 7.62 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en residuo bovino (ver Tabla 4.15), los resultados con 10% de inóculo son ligeramente mayores ($\mu_{max} = 0.13$ h⁻¹ y $K_s = 0.35$ g/L), lo que indica que existe

una mejor afinidad entre *L. fermentum* y el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 15% de inóculo. De igual forma, el valor de $\lambda = 5.66$ h a 15% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con el residuo bovino.

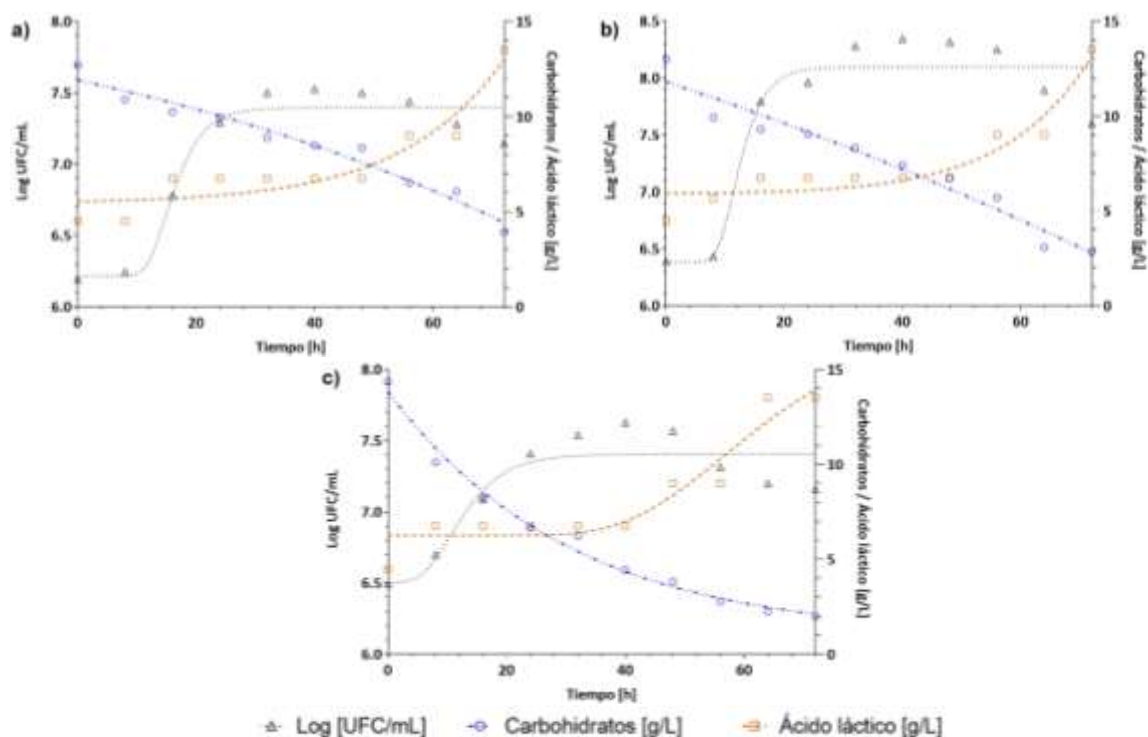


Figura 4.23 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

En la Figura 4.24 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en residuo bovino a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 72.23% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 37.15%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 7.88 g/L en el experimento con 15% de inóculo y un rendimiento de 0.71 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.72 gP/gS y se obtuvo la concentración más baja de AL (4.05 g/L). En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 6.69, 8.09 y 8.08 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Los parámetros cinéticos de *B. subtilis* en residuo bovino (ver Tabla 4.15) muestran que con 5% de inóculo existe mejor afinidad entre los

microorganismos probióticos y el sustrato, reportando una velocidad máxima de crecimiento de 0.06 h^{-1} y $K_s = 0.17 \text{ g/L}$. De igual forma, el valor de $\lambda = 5.24 \text{ h}$ a 5% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con el residuo bovino.

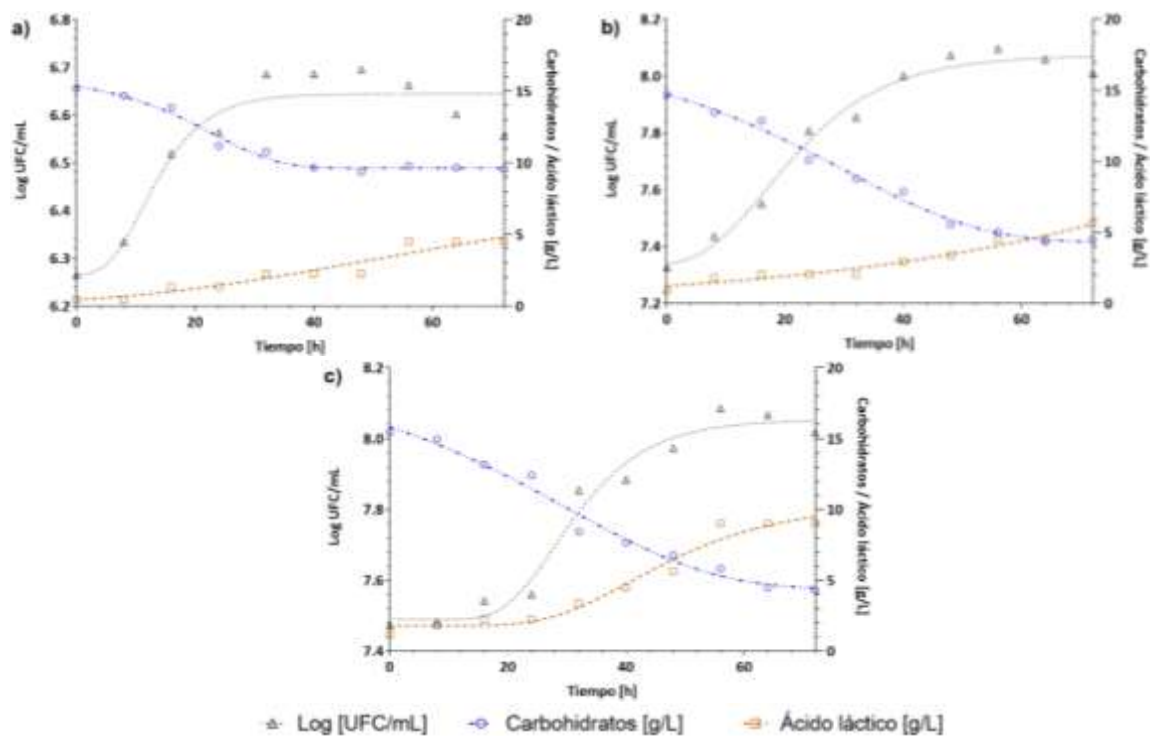


Figura 4.24 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en residuo bovino: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Tabla 4.15 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en residuo de origen bovino

Probiótico	Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	9.00	0.69	0.11	0.29	11.83	0.86
	10	9.00	0.71	0.17	0.46	6.71	0.80
	15	9.00	0.66	0.11	0.30	5.69	0.89
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	9.00	1.02	0.11	0.30	11.61	0.95
	10	9.00	0.89	0.13	0.35	8.61	0.90
	15	9.00	0.73	0.08	0.20	5.66	0.83
<i>Bacillus subtilis</i>	5	4.05	0.72	0.06	0.17	5.24	0.91
	10	4.73	0.46	0.03	0.09	6.11	0.98
	15	7.88	0.71	0.04	0.12	19.46	0.97

Residuo porcícola (porcinaza)

En la Figura 4.25 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. acidophilus* en porcinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 10% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 85.15% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 15% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 72.24%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 13.75 g/L en el experimento con 15% de inóculo, y un rendimiento de 1.34 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.83 gP/gS y una concentración de 8.95 g/L de AL. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.73, 7.95 y 7.94 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

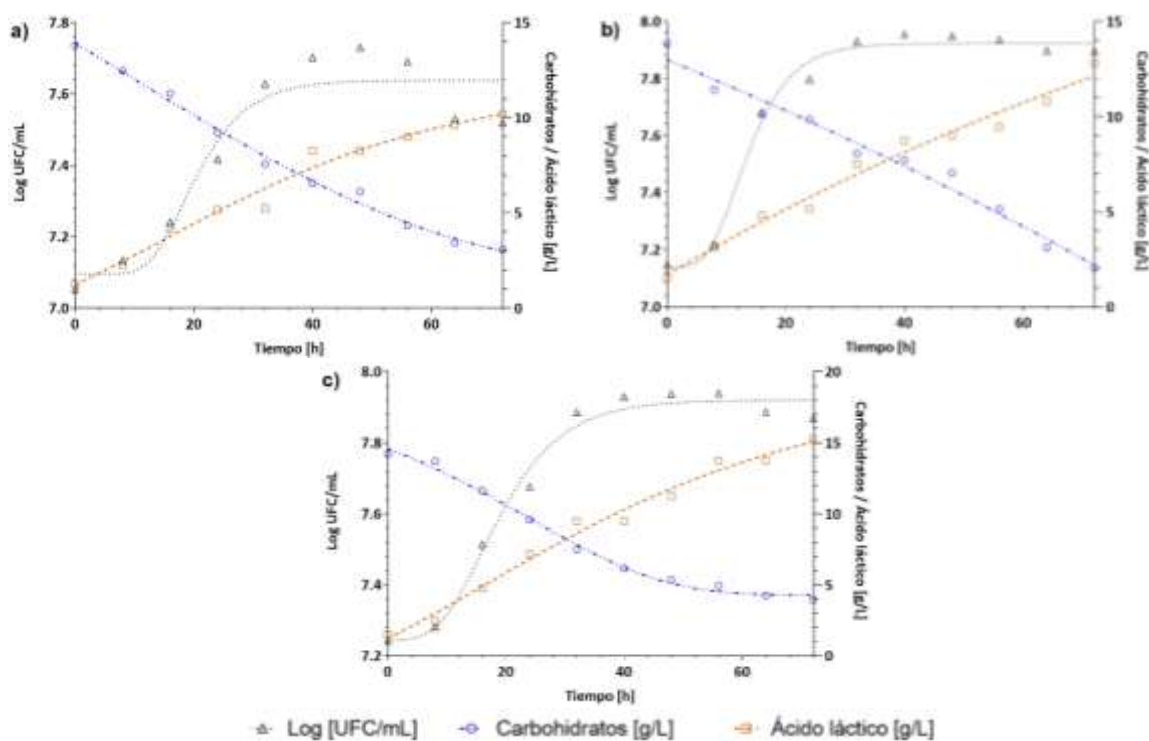


Figura 4.25 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. acidophilus* en porcinaza: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. acidophilus* en porcinaza (ver Tabla 4.16), los mejores resultados se obtuvieron con 10% de inóculo ($\mu_{max} = 0.07 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.20 \text{ g/L}$), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *L. acidophilus* y el sustrato, en

comparación a las concentraciones de 5 y 15% de inóculo. De igual forma, el valor de $\lambda = 6.77$ h a 10% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con la porcinaza.

En la Figura 4.26 se presentan las cinéticas de crecimiento de *L. fermentum* en porcinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 15% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 73.04% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 66.01%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 10.95 g/L en el experimento con 15% de inóculo, y un rendimiento de 1.08 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.78 gP/gS y una concentración de 7.25 g/L de AL. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.69, 7.81 y 7.88 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente. Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *L. fermentum* en porcinaza (ver Tabla 4.16), los mejores resultados se obtuvieron con 15% de inóculo ($\mu_{max} = 0.08$ h⁻¹ y $K_s = 0.22$ g/L), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *L. fermentum* y el sustrato, en comparación a las concentraciones de 5 y 10% de inóculo. De igual forma, el valor de $\lambda = 3.17$ h a 15% de inóculo, indica un menor tiempo de adaptación de los microorganismos con la porcinaza.

En la Figura 4.27 se presentan las cinéticas de crecimiento de *B. subtilis* en porcinaza a diferentes concentraciones de inóculo. El consumo de carbohidratos fue mayor al utilizar el 10% de inóculo, ya que al finalizar la bioconversión fermentativa se habían removido 51.04% de carbohidratos. Mientras que el experimento con 5% de inóculo fue el que presentó menor consumo de carbohidratos al remover 43.02%. Respecto a la producción de AL, la concentración máxima alcanzada fue de 6.10 g/L en el experimento con 15% de inóculo, y un rendimiento de 0.85 gP/gS. Mientras que con 5% de inóculo, el rendimiento fue de 0.65 gP/gS y una concentración de 4.23 g/L de AL. En cuanto a la concentración celular, los valores máximos obtenidos fueron de 7.75, 7.82 y 7.85 Log UFC/mL para los inóculos de 5, 10 y 15% respectivamente.

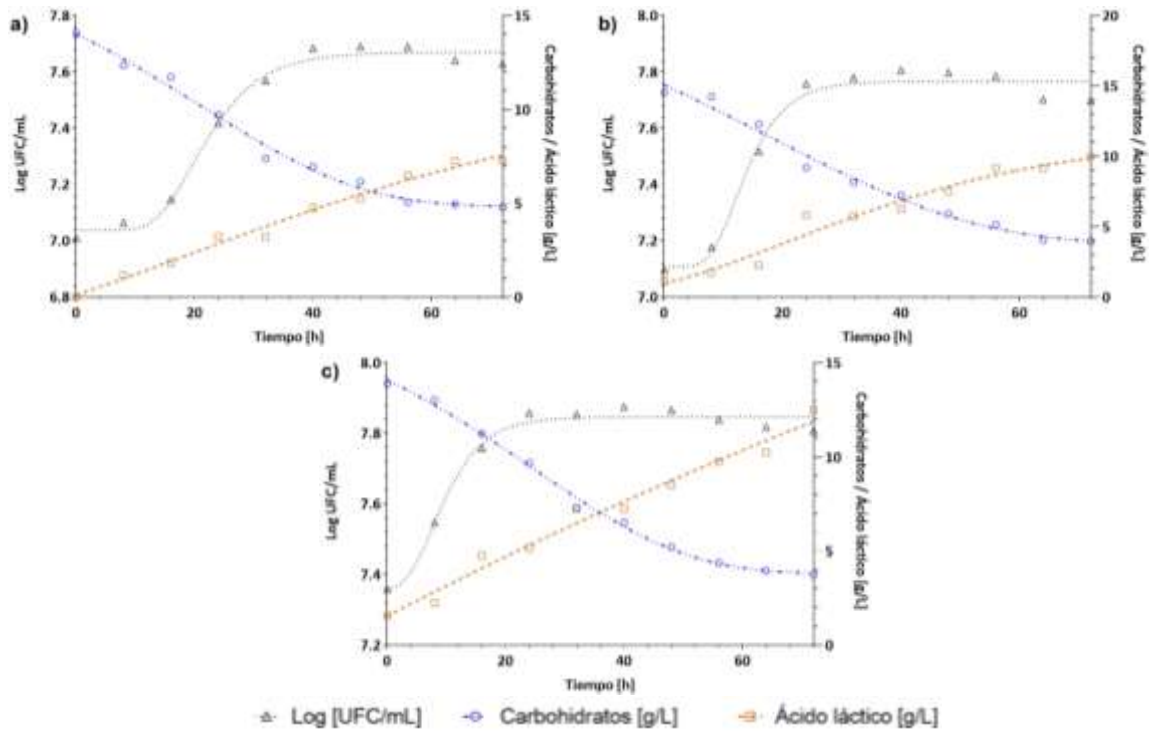


Figura 4.26 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *L. fermentum* en porcina: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

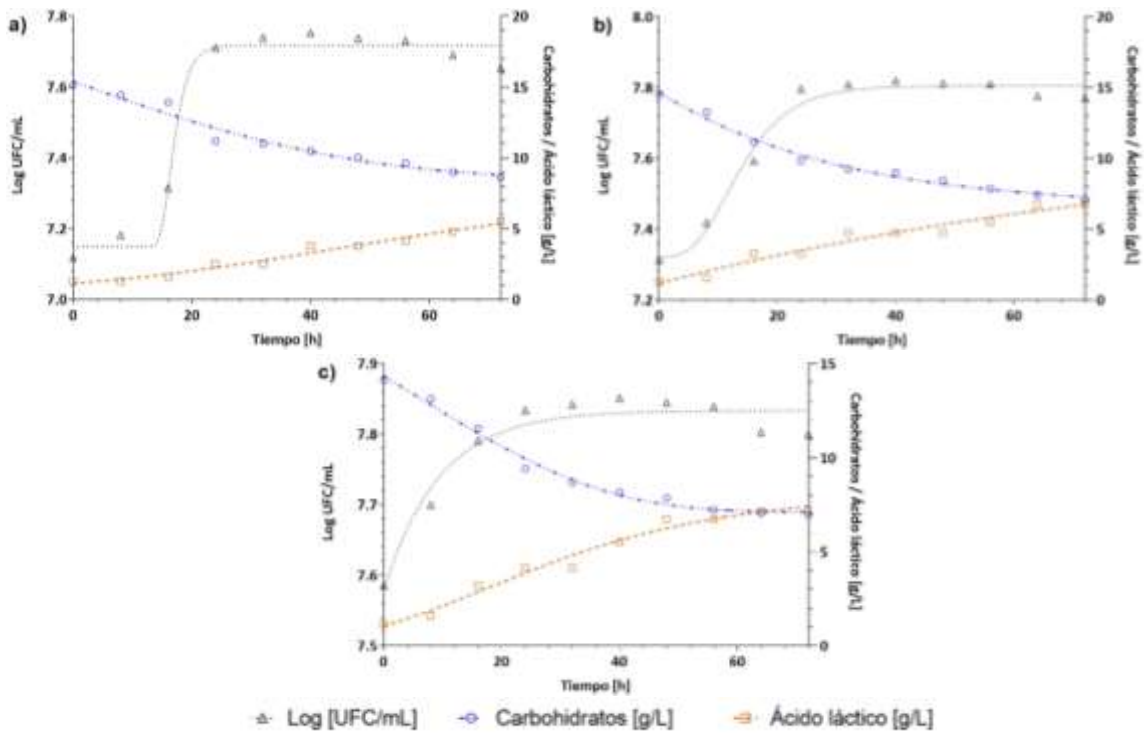


Figura 4.27 Crecimiento celular, consumo de sustrato y producción de AL con *B. subtilis* en porcina: a) 5, b) 10 y c) 15% de inóculo

Con respecto a los parámetros cinéticos del crecimiento de *B. subtilis* en porcinaza (ver Tabla 4.16), los mejores resultados se obtuvieron con 5% de inóculo ($\mu_{max} = 0.22 \text{ h}^{-1}$ y $K_s = 0.60 \text{ g/L}$), lo que indica que existe una mejor afinidad entre *B. subtilis* y el sustrato, en comparación a las concentraciones de 10 y 15% de inóculo. No obstante, el tiempo de lag más bajo se obtuvo en la cinética con 15% de inóculo ($\lambda = 4.81 \text{ h}$).

Tabla 4.16 Parámetros cinéticos del crecimiento de especies probióticas en porcinaza

Probiótico	Inóculo [% v/v]	AL [g/L]	$Y_{P/S}$ [gP/gS]	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [g/L]	λ [h]	R^2
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	8.95	0.83	0.06	0.17	12.49	0.91
	10	11.30	0.96	0.07	0.20	6.77	0.98
	15	13.75	1.34	0.05	0.14	8.59	0.98
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	7.25	0.78	0.06	0.16	13.37	0.98
	10	8.85	0.84	0.08	0.22	7.65	0.97
	15	10.95	1.08	0.08	0.22	3.17	0.98
<i>Bacillus subtilis</i>	5	4.23	0.65	0.22	0.60	14.69	0.98
	10	5.48	0.74	0.06	0.17	5.64	0.97
	15	6.10	0.85	0.04	0.11	4.81	0.93

4.3.3 Obtención de biomasa probiótica durante el proceso de bioconversión anaerobia a partir de residuos agroindustriales.

Obtención de biomasa a partir de RAC

En la Tabla 4.17 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con RAC, así como algunos parámetros importantes para su uso posterior. Se observa que el mejor rendimiento celular para *L. acidophilus* se obtuvo en la cinética con 5% de inóculo (0.28 gX/gS); en el caso de *L. fermentum*, el mayor rendimiento celular se alcanzó en la cinética con 10% de inóculo (0.27 gX/gS); mientras que *B. subtilis* se adaptó mejor a la cinética con 15% de inóculo (0.58 gX/gS). Por otra parte, la caracterización de las biomásas muestra en la mayoría de los casos, una remoción de carbohidratos de más del 50% respecto al valor inicial. Sin embargo, algunas concentraciones de carbohidratos en las biomásas (8.15-12.12 g/L), sugieren que podrían ser adecuadas para que el proceso fermentativo pueda continuar.

Es importante resaltar lo sucedido con el valor de las proteínas, ya que, al inicio del proceso se tenía una concentración de 1.54% y al finalizar el proceso de bioconversión fermentativa anaerobia, se obtuvieron valores entre 5.58 y 6.73%, considerando las tres especies probióticas. Esto sugiere que las biomásas obtenidas a partir de un proceso de bioconversión fermentativa en presencia de *L. acidophilus*, *L. fermentum* y *B. subtilis*, podrían ser utilizadas como fuente de proteína para suplementar la alimentación del sector ganadero. Además, las biomásas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas, lo que se traduce en beneficio a la salud del huésped.

Tabla 4.17 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con RAC

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{x/s}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	0.28	11.58	6.25	1.07×10^6
	10	0.24	5.16	6.73	1.04×10^6
	15	0.25	5.11	6.49	1.24×10^6
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	0.26	9.79	5.58	6.81×10^5
	10	0.27	8.15	6.11	1.04×10^6
	15	0.25	6.31	6.38	1.15×10^6
<i>Bacillus subtilis</i>	5	0.26	11.09	6.01	1.76×10^4
	10	0.40	12.12	6.67	2.27×10^4
	15	0.58	10.49	6.47	1.40×10^4

Obtención de biomasa a partir de olote

En la Tabla 4.18 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con olote y *L. acidophilus*, se observa que el mayor rendimiento celular se alcanzó en la cinética con 15% de inóculo (1.46 gX/gS). En el caso de *L. fermentum* y *B. subtilis*, no se obtuvieron rendimientos celulares, debido a que las pruebas realizadas no mostraron crecimiento por parte de estos microorganismos. Sin embargo, la caracterización de las biomásas probióticas, sí se llevó a cabo. Con respecto al contenido de carbohidratos en las biomásas finales, se observa que, en la mayoría de los casos, se presentan concentraciones elevadas (8.17-10.69 g/L), las cuales podrían ser adecuadas para que el proceso fermentativo pudiera continuar.

En cuanto al contenido proteico, se obtuvieron valores menores a los alcanzados con RAC, sin embargo, es importante mencionar que las concentraciones de proteínas sí aumentaron, pues al inicio del proceso se obtuvo el valor de 0.94% y al finalizar el proceso de bioconversión fermentativa anaerobia, se obtuvieron valores entre 1.79 y 3.49%, considerando las tres especies probióticas. Además, las biomásas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas, lo cual podría ser benéfico para su uso posterior.

Tabla 4.18 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con olote

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	1.37	10.61	2.75	2.03×10^9
	10	1.28	10.69	3.49	2.78×10^9
	15	1.46	10.65	2.68	2.65×10^9
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	-	9.25	2.54	1.75×10^5
	10	-	8.99	2.83	2.10×10^5
	15	-	7.91	1.99	6.24×10^4
<i>Bacillus subtilis</i>	5	-	9.58	1.79	1.70×10^3
	10	-	9.47	1.96	9.67×10^2
	15	-	8.17	3.35	2.30×10^3

Obtención de biomasa a partir de pergamino

En la Tabla 4.19 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con pergamino. Se observa que el mejor rendimiento celular para *L. acidophilus* se obtuvo en la cinética con 15% de inóculo (0.34 gX/gS); en el caso de *L. fermentum*, el rendimiento celular fue el mismo para las tres concentraciones de inóculo (0.32 gX/gS); mientras que *B. subtilis* se adaptó mejor a la cinética con 15% de inóculo (0.35 gX/gS). Por otra parte, la caracterización de las biomásas muestra en la mayoría de los casos, una remoción de carbohidratos de más del 50% respecto al valor inicial. Sin embargo, algunas concentraciones de carbohidratos en las biomásas (9.55-12.18 g/L), sugieren que podrían ser adecuadas para que el proceso fermentativo pueda continuar.

El contenido inicial de proteínas para el sustrato de pergamino fue de 1.43% y al finalizar el proceso de bioconversión fermentativa anaerobia, se obtuvieron valores entre 3.24 y 7.67%, considerando las tres especies probióticas. Además, las biomasas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas.

Tabla 4.19 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con pergamino

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	0.32	12.15	4.29	1.09 x 10 ⁶
	10	0.33	10.48	4.61	1.24 x 10 ⁶
	15	0.34	9.55	4.93	1.08 x 10 ⁷
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	0.32	11.39	3.24	1.03 x 10 ⁶
	10	0.32	12.18	3.28	1.30 x 10 ⁶
	15	0.32	10.75	4.17	2.10 x 10 ⁶
<i>Bacillus subtilis</i>	5	0.30	9.71	6.52	6.70 x 10 ⁵
	10	0.34	7.22	6.83	2.75 x 10 ⁶
	15	0.35	6.41	7.67	6.90 x 10 ⁶

Obtención de biomasa a partir de pollinaza

En la Tabla 4.20 se presentan los rendimientos de las biomasas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con pollinaza. Para el caso de la especie *L. acidophilus*, se observa que el mayor rendimiento celular se obtuvo con un inóculo del 15% (0.94 gX/gS), además, bajo estas condiciones hubo mayor remoción de carbohidratos durante el proceso de bioconversión y la concentración final en la biomasa fue de 7.02 g/L, también, el porcentaje de proteínas aumentó con respecto a la concentración en el sustrato inicial (4.31%), alcanzando un valor de 19.61%.

En cuanto a la especie *L. fermentum*, presentó mayor rendimiento celular al utilizar 10% de inóculo (0.98 gX/gS), a esta concentración, el valor de carbohidratos fue de 7.76 g/L y el de proteínas fue de 17.85%. Sin embargo, la mayor cantidad de proteínas se obtuvo en la cinética realizada con 15% de inóculo (17.05%). Por último, la especie *B. subtilis* alcanzó un mejor

rendimiento celular en la cinética con 5% de inóculo (0.91 gX/gS), donde el contenido de carbohidratos fue de 10.14 g/L y el valor de proteínas fue de 16.73%.

Tabla 4.20 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con pollinaza

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	0.77	11.13	15.45	1.74 x 10 ⁶
	10	0.82	10.50	17.85	2.3 x 10 ⁶
	15	0.94	7.02	19.61	1.60 x 10 ⁷
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	0.94	9.19	19.81	1.95 x 10 ⁶
	10	0.98	7.76	23.71	1.90 x 10 ⁶
	15	0.88	9.13	27.88	1.73 x 10 ⁵
<i>Bacillus subtilis</i>	5	0.91	10.14	16.73	1.08 x 10 ⁷
	10	0.82	5.62	19.62	1.15 x 10 ⁷
	15	0.45	5.23	22.26	1.39 x 10 ⁷

Obtención de biomasa a partir de residuo bovino

En la Tabla 4.21 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con residuo bovino. Para el caso de la especie *L. acidophilus*, se observa que el mayor rendimiento celular se obtuvo con un inóculo del 10% (0.38 gX/gS), además, bajo estas condiciones hubo mayor remoción de carbohidratos durante el proceso de bioconversión y la concentración final en la biomasa fue de 3.26 g/L, también, el porcentaje de proteínas aumentó con respecto a la concentración en el sustrato inicial (0.75%), alcanzando un valor de 21.54%. Sin embargo, el contenido más alto de proteínas se alcanzó a partir de la cinética con 15% de inóculo y se obtuvo el valor de 32.19% P. Cabe señalar que, tomando en cuenta todas las especies probióticas, este fue el contenido más alto de proteínas obtenido a partir del proceso de bioconversión con residuo bovino.

En cuanto a la especie *L. fermentum*, presentó mayor rendimiento celular al utilizar 5% de inóculo (0.65 gX/gS), a esta concentración, el valor de carbohidratos fue de 6.01 g/L y el de proteínas fue de 26.54%. Por último, la especie *B. subtilis* alcanzó un mejor rendimiento

celular en la cinética con 15% de inóculo (0.55 gX/gS), donde el contenido de carbohidratos fue de 6.11 g/L y el valor de proteínas fue de 120.54%. Además, las biomásas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas.

Tabla 4.21 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con residuo bovino

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	0.37	3.49	26.72	6.67 x 10 ⁴
	10	0.38	3.26	21.54	5.20 x 10 ⁶
	15	0.36	4.87	32.19	7.35 x 10 ⁴
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	0.65	6.01	26.54	6.28 x 10 ⁵
	10	0.53	4.86	25.12	3.99 x 10 ⁵
	15	0.39	4.02	26.37	2.76 x 10 ⁵
<i>Bacillus subtilis</i>	5	0.46	11.32	18.03	2.44 x 10 ⁴
	10	0.39	6.02	18.54	1.01 x 10 ⁶
	15	0.55	6.11	20.54	1.51 x 10 ⁶

Obtención de biomasa a partir de porcinaza

En la Tabla 4.22 se presentan los rendimientos de las biomásas obtenidas mediante la bioconversión fermentativa con porcinaza. Para el caso de la especie *L. acidophilus*, se observa que el mayor rendimiento celular se alcanzó al utilizar un inóculo del 15% (0.59 gX/gS), a esta concentración, el contenido de carbohidratos fue de 6.15 g/L y el porcentaje de proteínas aumentó considerablemente con respecto a la concentración en el sustrato inicial (2.84%), alcanzando un valor de 16.65%. Sin embargo, la concentración más baja de carbohidratos (4.42 g/L) y más alta de proteínas (17.68%), se obtuvo a partir de la cinética con 10% de inóculo.

En cuanto a la especie *L. fermentum*, presentó mayor rendimiento celular al utilizar 15% de inóculo (0.55 gX/gS), a esta concentración, también se obtuvo la menor cantidad de carbohidratos (5.51 g/L) y el mayor contenido de proteínas (16.52%). Por último, la especie *B. subtilis* alcanzó un mejor rendimiento celular en la cinética con 15% de inóculo (0.56

gX/gS), donde el contenido de carbohidratos fue de 8.69 g/L y el valor de proteínas se reportó en 16.73%. %. Además, las biomásas presentan una concentración celular de las especies probióticas utilizadas.

Tabla 4.22 Rendimiento celular y caracterización de la biomasa obtenida a partir de la bioconversión anaerobia con porcinaza

Probiótico	Inóculo [%]	$Y_{X/S}$ [gX/gS]	Carbohidratos [g/L]	Proteínas [%]	Concentración celular [UFC/g]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	0.56	5.11	15.38	1.33 x 10 ⁶
	10	0.53	4.42	17.68	2.26 x 10 ⁶
	15	0.59	6.15	16.65	2.04 x 10 ⁶
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	0.53	6.39	15.49	2.20 x 10 ⁶
	10	0.51	6.01	16.05	2.83 x 10 ⁶
	15	0.55	5.51	16.52	2.46 x 10 ⁶
<i>Bacillus subtilis</i>	5	0.51	10.49	14.22	1.54 x 10 ⁶
	10	0.54	9.45	14.36	2.50 x 10 ⁶
	15	0.56	8.69	14.73	2.36 x 10 ⁶

4.3.4 Producción final de biomásas probióticas

A partir de la información reportada en las Tablas 4.17-4.22, se infiere que los rendimientos celulares varían con respecto al sustrato y a la especie probiótica utilizada. Al realizar la caracterización de las biomásas probióticas, se observa que en ninguno de los experimentos se alcanza la remoción total de carbohidratos, por el contrario, más de la mitad del total de biomásas analizadas, presentan concentraciones mayores a 8.0 g/L, lo cual podría sugerir que el proceso de bioconversión fermentativa continuaría por más de 72 h. Por otro lado, es importante enfatizar el incremento en la concentración de proteínas, ya que, al inicio del proceso, los residuos evaluados, presentan valores de 0.5 a 4.0% P, y al cabo de 72 h de fermentación, las proteínas alcanzan valores desde 1.79 hasta 32.19%. Además, las biomásas presentan una concentración de células probióticas, por lo cual podrían ser utilizadas como alimentos funcionales. En la Figura 4.28 se presenta la cantidad de biomasa probiótica obtenida a partir de los seis residuos agroindustriales. En base a los rendimientos celulares, se eligió el porcentaje de inóculo que permitió el crecimiento adecuado de *L. acidophilus* (LA), *L. fermentum* (LF) y *B. subtilis* (BS) para cada sustrato.

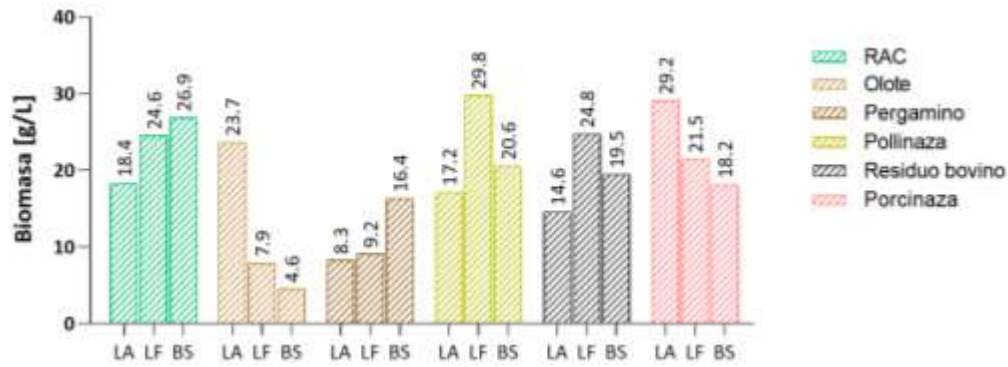


Figura 4.28 Producción de biomasa probiótica a partir de residuos agroindustriales

4.3.5 Análisis del porcentaje de inóculo en el proceso de bioconversión anaerobia para la obtención de biomasa

RAC

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0$) e inóculo ($p=0$), así como la interacción ($p=0$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato el RAC. En la Figura 4.29a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En la Figura 4.29b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de RAC, se debe utilizar 15% de inóculo de la especie *B. subtilis*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.17.

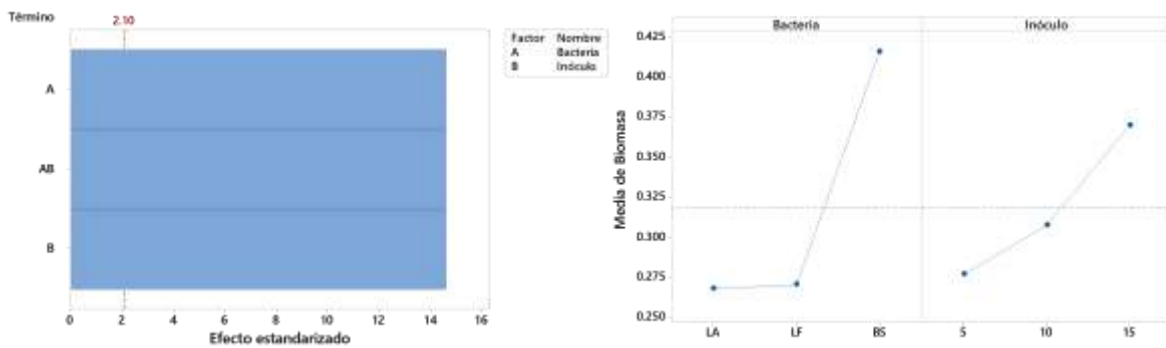


Figura 4.29 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con RAC

Olote

Debido a que *L. fermentum* y *B. subtilis* no crecieron en este sustrato, se optó por realizar un diseño unifactorial para determinar el porcentaje de inóculo adecuado para que la especie *L. acidophilus* pueda generar mayor cantidad de biomasa celular. El análisis de varianza permitió determinar que el factor inóculo ($p=0$) tiene un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato el olote. En la Figura 4.30 se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que, para obtener mayor producción de biomasa celular a partir del olote, se debe utilizar 15% de inóculo de la especie *L. acidophilus*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.18.

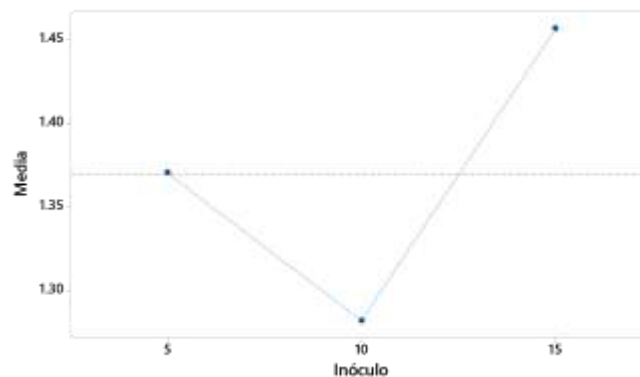


Figura 4.30 Gráfica de efectos principales para biomasa con olote

Pergamino

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0.034$) e inóculo ($p=0.002$), así como la interacción ($p=0.002$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato pergamino. En la Figura 4.31a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En la Figura 4.31b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que, para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de pergamino, se debe utilizar 15% de inóculo de la especie *B. subtilis*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.19.

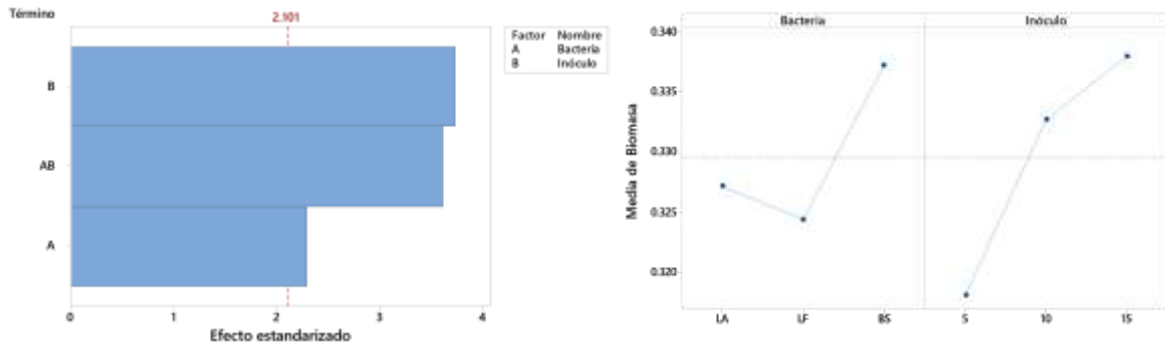


Figura 4.31 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con pergamino

Pollinaza

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0$) e inóculo ($p=0$), así como la interacción ($p=0$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato pollinaza. En la Figura 4.32a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En la Figura 4.32b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que, para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de pollinaza, se debe utilizar 10% de inóculo de la especie *L. fermentum*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.20.

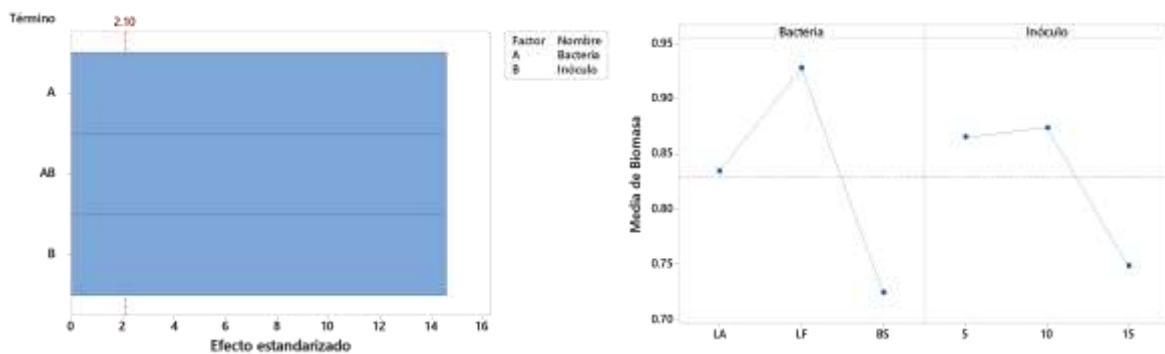


Figura 4.32 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con pollinaza

Residuo bovino

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0$) e inóculo ($p=0$), así como la interacción ($p=0$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato residuo bovino. En la Figura 4.33a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En la Figura 4.33b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que, para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de residuo bovino, se debe utilizar 5% de inóculo de la especie *L. fermentum*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.21.

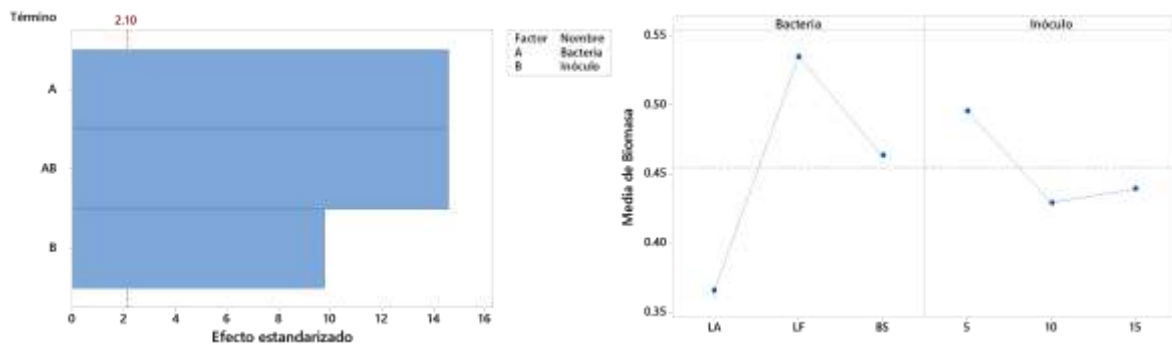


Figura 4.33 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con residuo bovino

Porcinaza

El análisis de varianza permitió determinar que los factores bacteria ($p=0$) e inóculo ($p=0$), así como la interacción ($p=0$) entre dichos factores, tienen un efecto significativo sobre la generación de biomasa celular obtenida a partir del proceso de bioconversión anaerobia al utilizar como sustrato porcinaza. En la Figura 4.34a se muestra el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, teniendo como variable de respuesta la biomasa, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En la Figura 4.34b se presenta la gráfica de efectos principales, en la cual se observa que para obtener mayor producción de biomasa celular a partir de porcinaza, se debe utilizar 15% de inóculo de la especie *L. acidophilus*, lo cual coincide con el mayor rendimiento celular reportado en la Tabla 4.22.

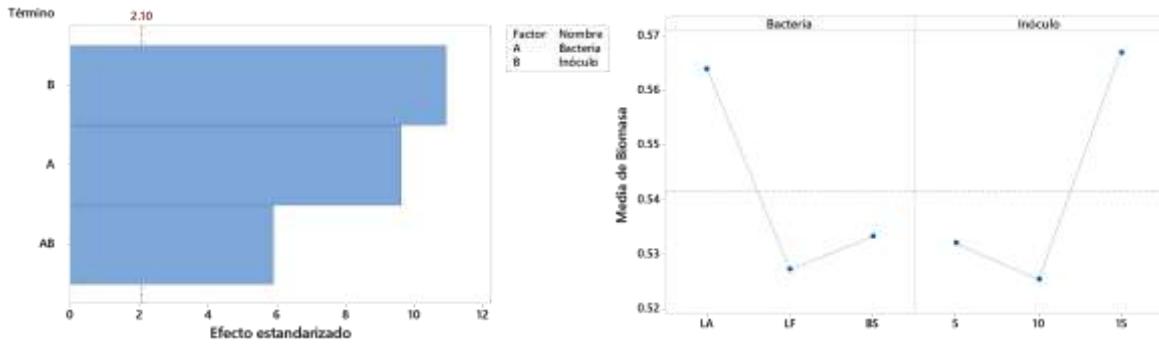


Figura 4.34 a) Diagrama de Pareto de efectos estandarizados y b) gráfica de efectos principales para biomasa con porcinaza

CONCLUSIONES

Al realizar la evaluación de la etapa 1, se demostró que la velocidad de agitación y la especie probiótica, son factores significativos que influyen en la generación de biomasa celular durante el proceso de bioconversión. A partir de los análisis estadísticos se determinó que, para obtener mayores rendimientos de biomasa celular, se debe utilizar el RAC con *L. fermentum* a 150 rpm y para el caso de la porcina se debe utilizar *L. acidophilus* a 100 rpm.

Durante la evaluación de la etapa 2, se comprobó que la concentración de inóculo también es un factor que influye en el proceso de bioconversión fermentativa y en la generación de biomasa celular, y a partir de los análisis estadísticos se pudo determinar la especie probiótica que se desarrolla mejor en cada uno de los residuos agroindustriales utilizados, así como la concentración a la que debe adicionarse en dicho residuo.

- ✓ Para el caso del RAC, se concluye que el proceso de bioconversión debe llevarse a cabo a 100 rpm, con un inóculo del 15% v/v correspondiente a la especie *B. subtilis*.
- ✓ Para el residuo de olote de maíz blanco, se concluye que, para obtener mayores rendimientos de biomasa celular, debe someterse a un proceso de bioconversión operado a 100 rpm, con un inóculo del 15% v/v correspondiente a la especie *L. acidophilus*.
- ✓ Para el residuo de pergamino de café, se sugiere realizar un proceso fermentativo anaerobio, con una velocidad de agitación de 100 rpm y un inóculo del 15% v/v correspondiente a la especie *B. subtilis*.
- ✓ Para el residuo de pollinaza, se recomienda primero, adicionar el sustrato con una fuente de carbohidratos, como por ejemplo melaza. Posteriormente, se sugiere llevar a cabo un proceso fermentativo anaerobio con agitación de 100 rpm y un inóculo correspondiente al 10% v/v de la especie *L. fermentum*.
- ✓ Para el residuo de origen bovino se concluye que debe ser adicionado con una fuente de carbohidratos (en este proyecto se utilizó melaza diluida 1:20) y posteriormente realizar un proceso de bioconversión anaerobia con agitación de 100 rpm y un inóculo correspondiente al 5% v/v de la especie *L. fermentum*.

- ✓ Para el residuo de porcínaza se sugiere soportarlo con melaza diluida y posteriormente someterlo a un proceso de bioconversión operado a 100 rpm, con un inóculo del 15% v/v correspondiente a la especie *L. acidophilus*.

Las condiciones de operación recomendadas para cada residuo, se determinaron en función del rendimiento de biomasa celular.

Partiendo de la investigación y experimentación realizada, se concluye que es posible obtener biomásas nutritivas probióticas, a partir del aprovechamiento de residuos agrícolas y ganaderos en procesos fermentativos anaerobios. Ya que, durante dicho proceso, las especies probióticas son capaces de consumir los carbohidratos presentes en el sustrato y sintetizar proteínas. Por lo cual, las biomásas finales, presentan bajas concentraciones de carbohidratos y alto contenido de proteínas, respecto a su caracterización inicial. Además de que las biomásas finales, también presentan una concentración celular probiótica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Badillo, J.A., Méndez-Contreras, J.M., Hernández-Aguilar, E. y Alvarado-Lassman, A. 2019. Determinación de los parámetros biocinéticos del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en un lodo porcícola. *Química e Ingeniería verde para la Sustentabilidad*. 88-93
- Aguilar-Rivera, N., Algara-siller, M., Olvera-vargas, L. A., & Michel-cuello, C. (2018). Land management in Mexican sugarcane crop fields. *Land Use Policy*, 78, 763–780. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2018.07.034>
- Al-Khalaifa, H., Al-Nasser, A., Al-Surayee, T., Al-Kandari, S., Al-Enzi, N., Al-Sharrah, T., Ragheb, G., Al-Qalaf, S., & Mohammed, A. (2019). Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens. *Poultry Science*, 98, 4465–4479. <https://doi.org/10.3382/ps/pez282>
- Alves, R. C., Rodrigues, F., Nunes, M. A., Vinha, A. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2017). State of the art in coffee processing by-products. In *Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8.00001-3>
- Arango, J., Ruden, A., Martinez-Baron, D., Loboguerrero, A. M., Berndt, A., Chacón, M., Torres, C. F., Oyhantcabal, W., Gomez, C. A., Ricci, P., Ku-Vera, J., Burkart, S., Moorby, J. M., & Chirinda, N. (2020). Ambition Meets Reality: Achieving GHG Emission Reduction Targets in the Livestock Sector of Latin America. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4(May). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00065>
- Ariza Martínez, J. A., Sanabria Velnadia, R. A., López Martínez, G., & Gómez Torres, L. M. (2017). Propuesta para el tratamiento de porcínaza generada en la granja porcícola “ El Encanto ” ubicada en San Juan de Rioseco. *Letras ConCiencia Tecnológica*, 17, 3–11. <https://revistas.itc.edu.co/index.php/letras/article/view/132>
- Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L., & Wang, T. (2017). Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 96(1), 74–82. <https://doi.org/10.3382/ps/pew246>
- Behera, S. S., Ray, R. C., & Zdolec, N. (2018). Lactobacillus plantarum with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented Foods. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/9361614>
- Benitez, V., Rebollo-Hernanz, M., Hernanz, S., Chantres, S., Aguilera, Y., & Martin-Cabrejas, M. A. (2019). Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization. *Food Research International*, 122, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.002>
- Borges, A.S.; Montano, I.D.C.; Sousa-Junior, R., Galeano, C.A.S. Automatic solids feeder

- using fuzzy control: A tool for fed batch bioprocesses. *J Process Control* **2020**, *93*, 28-42. <https://doi.org/10.1016/j.jprocont.2020.07.006>
- Cao, G., Tao, F., Hu, Y., Li, Z., Zhang, Y., Deng, B., & Zhan, X. (2019). Positive effects of a: *Clostridium butyricum*-based compound probiotic on growth performance, immune responses, intestinal morphology, hypothalamic neurotransmitters, and colonic microbiota in weaned piglets. *Food and Function*, *10*(5), 2926–2934. <https://doi.org/10.1039/c8fo02370k>
- Carrillo-Nieves, D., Rostro Alanís, M. J., de la Cruz Quiroz, R., Ruiz, H. A., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2019). Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *102*, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.031>
- CEDRSSA. (2018). Reporte del café en México: diagnóstico y perspectiva. In *Reporte del café en México: diagnóstico y perspectiva*. http://www.cedrssa.gob.mx/files/10/30El_café_en_México:_diagnóstico_y_perspectiva.pdf
- Chandra, C.M., Harini, K., Vajiha, B.A., Lalitha, U.L., Maria, P.J., Babuskin, S., Karthikeyan, S., Sudarshan, K., Renuka, V. y Sukumar, M. 2018. Extraction and characterization of polysaccharides from tamarind seeds, rice mill residue, okra waste and sugarcane bagasse for its Bio-thermoplastic properties. *Carbohydrate Polymers*. *186*: 394-401.
- Chicaiza Muyulema, C. G. (2016). *Utilización de Agave americano (Cabuyo) en la elaboración de ensilaje para la alimentación de cuyes durante la etapa de crecimiento engorde* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/7080/1/17T1454.pdf>
- Cury-R., K., Aguas-M., Y., Martinez-M., A., Olivero-V., R., & Chams-Ch., L. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, *9*, 122–132. <https://doi.org/10.24188/recia.v9.nS.2017.530>
- Da Silva, M. N., Lago Tagliapietra, B., Do Amaral Flores, V., & Pereira dos Santos Richards, N. S. (2021). In Vitro test to evaluate survival in the gastrointestinal tract of commercial probiotics. *Current Research in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.04.006>
- De Matos, M., Santos, F., & Eichler, P. (2020). Sugarcane world scenario. In *Sugarcane Biorefinery, Technology and Perspectives*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814236-3.00001-9>
- Ding, S., Yan, W., Ma, Y., & Fang, J. (2021). The impact of probiotics on gut health via alternation of immune status of monogastric animals. *Animal Nutrition*, *7*, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.004>
- Estrada-García, J., Hernández-Aguilar, E., Romero-Mota, D.I., Méndez-Contreras, J.M. (2023). Influence of anaerobic biotransformation process of agro-industrial waste

- with *Lactobacillus acidophilus* on the rheological parameters: case of study of pig manure. *Arco Microbiol.* 205 (99). <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03437-8>
- Ersoy, E., & Ugurlu, A. (2020). The potential of Turkey's province-based livestock sector to mitigate GHG emissions through biogas production. *Journal of Environmental Management*, 255. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109858>
- Farooq, M., Bell, A. H., Almustapha, M. N., & Andresen, J. M. (2017). Bio-methane from an-aerobic digestion using activated carbon adsorption. *Anaerobe*, 46, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.05.003>
- FIRA. (2017). Panorama Agroalimentario. In *Panorama Agroalimentario - Carne de bovino 2017*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200634/Panorama_Agroalimentario_Carne_de_Cerdo_2016.pdf
- Font-Palma, C. (2019). Methods for the Treatment of Cattle Manure—A Review. *Journal of Carbon Research*, 5(2), 2–20. <https://doi.org/10.3390/c5020027>
- García, A., Navarro, K., Sanhueza, E., Pineda, S., Pastene, E., Quezada, M., Henríquez, K., Karlyshev, A., Villena, J., & González, C. (2017). Characterization of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C, a probiotic strain with a potent anti-*Helicobacter pylori* activity. *Electronic Journal of Biotechnology*, 25, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.11.008>
- García-Hernández, Y., Pérez-Sánchez, T., Boucourt, R., Balcázar, J. L., Nicoli, J. R., Moreira-Silva, J., Rodríguez, Z., Fuertes, H., Nuñez, O., Albelo, N., & Halaihel, N. (2016). Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. *Research in Veterinary Science*, 108, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.009>
- García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Corn history and culture. In S. O. Serna-Saldivar (Ed.), *Corn: Chemistry and Technology* (3rd Editio). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2>
- Ghazvini, R. D., Kouhsari, E., Zibafar, E., Hashemi, S. J., Amini, A., & Niknejad, F. (2016). Antifungal Activity and Aflatoxin Degradation of *Bifidobacterium Bifidum* and *Lactobacillus Fermentum* Against Toxigenic *Aspergillus Parasiticus*. *The Open Microbiology Journal*, 10, 197–201. <https://doi.org/10.2174/1874285801610010197>
- Gomes de Oliveira Paranhos, A., Herrera Adarme, O. F., Fernandes Barreto, G., de Queiroz Silva, S., & de Aquino, S. F. (2020). Methane production by co-digestion of poultry manure and lignocellulosic biomass: Kinetic and energy assessment. *Bioresource Technology*, 300, 122588. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122588>
- González-Leos, A., Bustos-Vázquez, M.G., Rodríguez-Castillejos, G.C., Rodríguez-Durán y Del Ángel-Del Ángel, A. 2020. Kinetics of lactic acid fermentation from sugarcane

- bagasse by *Lactobacillus pentosus*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 19(1): 377-386.
- Guo, Z., Wang, X., Wang, H., Hu, B., Lei, Z., Koboyashi, M., Adachi, Y., Shimizu, K. y Zhang, Z. 2019. Effects of nanobubble water on the growth of *Lactobacillus acidophilus* 1028 and its acid lactid production. *RSC Advances*. 9: 30760-30767.
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>
- Heredia-Castro, P. Y., Hernández-Mendoza, A., González-Córdova, A. F., & Vallejo-Cordoba, B. (2017). Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: Mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia*, 42(6), 340–346.
- Hernández-Cázares, A., Real-Luna, N., Delgado-Blancas, M. I., Bautista-Hernández, L., & Velasco-Velasco, J. (2016). Residuos Agroindustriales Con Potencial De Compostaje. *Agroproductividad*, 9(8), 10–17.
- Hunce, S.Y., Clemente, R. y Bernal, M.P. 2020. Selection of Mediterranean plants biomass for the composting of pig slurry solids based on the heat production during aerobic degradation. *Waste Management*. **104**: 1-8.
- ICO. (2020). *Informe del mercado de Café Octubre 2020*. International Coffee Organization. <https://www.ico.org/>
- INECC. (2018). *Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero*. Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>
- INEGI. (2017). *Encuesta Nacional Agropecuaria 2017*. Encuesta Nacional Agropecuaria. <https://www.inegi.org.mx/programas/ena/2017/>
- Jäger, R., Purpura, M., Farmer, S., Cash, H. A., & Keller, D. (2018). Probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 improves protein absorption and utilization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10, 611–615. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9354-y>
- Jalili, M., Mokhtari, M., Eslami, H., Abbasi, F., Ghanbari, R., & Ebrahimi, A. A. (2019). Toxicity evaluation and management of co-composting pistachio wastes combined with cattle manure and municipal sewage sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.056>
- Janke, L., Weinrich, S., Leite, A.F., Schüch, A., Nikolausz, M., Nelles, M. y Stinner, W. 2017. Optimization of semi-continuous anaerobic digestion of sugarcane straw co-digested with filter cake: Effects of macronutrients supplementation on conversion kinetics. *Bioresource Technology*. 245: 35-43.

- Jeswani, H. K., Whiting, A., Martin, A., & Azapagic, A. (2019). Environmental impacts of poultry litter gasification for power generation. *Energy Procedia*, *161*, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.02.055>
- Jurado-Gómez, H., & Jarrín-Jarrín, V. (2015). Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. *Biosalud*, *14*(2), 49–62. <https://doi.org/10.17151/biosa.2015.14.2.5>
- Kang, M. S., Lim, H. S., Oh, J. S., Lim, Y. J., Wuertz-Kozak, K., Harro, J. M., Shirtliff, M. E., & Achermann, Y. (2017). Antimicrobial activity of *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus fermentum* against *Staphylococcus aureus*. *Pathogens and Disease*, *75*(2), 1–10. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx009>
- Kewcharoen, W., & Srisapoome, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish and Shellfish Immunology*, *94*, 175–189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>
- Khalil, M., Berawi, M. A., Heryanto, R., & Rizalie, A. (2019). Waste to energy technology: The potential of sustainable biogas production from animal waste in Indonesia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *105*, 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.011>
- Khonngam, T., & Salakkam, A. (2019). Bioconversion of sugarcane bagasse and dry spent yeast to ethanol through a sequential process consisting of solid-state fermentation, hydrolysis, and submerged fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, *150*. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107284>
- Kovács, Á. T. (2019). *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, *27*(8), 724–725. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.03.008>
- Kreidenweis, U., Breier, J., Herrmann, C., Libra, J., & Prochnow, A. (2021). Greenhouse gas emissions from broiler manure treatment options are lowest in well-managed biogas production. *Journal of Cleaner Production*, *280*, 124969. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124969>
- Lee, S. R., Lee, J., Lee, T., Cho, S. H., Oh, J. I., Kim, H., Tsang, D. C. W., & Kwon, E. E. (2018). Carbon dioxide assisted thermal decomposition of cattle excreta. *Science of the Total Environment*, *615*, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.201>
- Lehri, B., Seddon, A. M., & Karlyshev, A. V. (2017). *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections. *Virulence*, *8*(8). <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1362533>
- Li, F., Cheng, S., Yu, H., & Yang, D. (2016). Waste from livestock and poultry breeding and its potential assessment of biogas energy in rural China. *Journal of Cleaner Production*, *126*, 451–460. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.104>

- Li, Y., Zhao, J., Achinas, S., Zhang, Z., Krooneman, J., & Euverink, G. J. W. (2020). The biomethanation of cow manure in a continuous anaerobic digester can be boosted via a bioaugmentation culture containing Bathyarchaeota. *Science of the Total Environment*, 745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141042>
- Llerena Ramírez, C., Llor González, C., & Suéscum Quiroz, Natasha Molina Bravo, G. (2017). Desarrollo de una leche de cabra fermentada empleando *L. Acidophilus* en cocultivo con las BAL del yogurt. *Alimentos Hoy*, 25(41), 77–95. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/449/367>
- Luisse, D., Bertocchi, M., Motta, V., Salvarani, C., Bosi, P., Luppi, A., Fanelli, F., Mazzoni, M., Archetti, I., Maiorano, G., Nielsen, B. K. K., & Trevisi, P. (2019). Bacillus sp. probiotic supplementation diminish the Escherichia coli F4ac infection in susceptible weaned pigs by influencing the intestinal immune response, intestinal microbiota and blood metabolomics. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0380-3>
- Luo, L., Shao, Y., Luo, S., Zeng, F., & Tian, G. (2019). Nutrient removal from piggery wastewater by *Desmodesmus* sp.CHX1 and its cultivation conditions optimization. *Environmental Technology*, 40(21), 2739–2746. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1449903>
- Markowiak, P., & Ślizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Mendes dos Santos, É., Malvezzi de Macedo, L., Lacalendola Tundisi, L., Artem Ataide, J., Camargo, G. A., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., & Gava Mazzola, P. (2021). Coffee by-products in topical formulations: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 111(April 2020), 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>
- Méndez-Hernández, J. E., Loera, O., Méndez-Hernández, E. M., Herrera, E., & Soto Cruz, N. Ó. (2019). Coupling energy-production processes: The use of residues from bioethanol production to improve the anaerobic digestion of corn stover. *Biomass and Bioenergy*, 128. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105322>
- Mendoza Martinez, C. L., Alves Rocha, E. P., Oliveira Carneiro, A. de C., Borges Gomes, F. J., Ribas Batalha, L. A., Vakkilainen, E., & Cardoso, M. (2019). Characterization of residual biomasses from the coffee production chain and assessment the potential for energy purposes. *Biomass and Bioenergy*, 120, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.003>
- Montejo Olan, S., Laines Canepa, J., & Sosa Oliver, J. (2016). Codigestión anaerobia de excretas generada en una granja porcina. *Ciencia UANL*, 19(79), 51–55.
- Mustafa, S.M., Chua, L.S. y El-Enshasy, H.A. 2019. Effects of agitation speed and kinetic studies on probiotication of pomegranate juice with *Lactobacillus casei*. *Molecules*. 24: 2357.

- Nagarajan, D., Kusmayadi, A., Yen, H. W., Dong, C. Di, Lee, D. J., & Chang, J. S. (2019). Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. *Bioresource Technology*, 289(June), 121718. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121718>
- Nasini, L., De Luca, G., Ricci, A., Ortolani, F., Caselli, A., Massaccesi, L., Regni, L., Gigliotti, G., & Proietti, P. (2016). Gas emissions during olive mill waste composting under static pile conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 107, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.001>
- Novik, G., & Savich, V. (2020). Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine. *Microbes and Infection*, 22(1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004>
- Ornelas-Eusebio, E., García-Espinosa, G., Laroucau, K., & Zanella, G. (2020). Characterization of commercial poultry farms in Mexico: Towards a better understanding of biosecurity practices and antibiotic usage patterns. *PLoS ONE*, 15(12), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242354>
- Ozogul, F., Yazgan, H., & Ozogul, Y. (2020). Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus acidophilus*. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00015-5>
- Panchasara, H., Samrat, N. H., & Islam, N. (2021). Greenhouse gas emissions trends and mitigation measures in Australian agriculture sector—a review. *Agriculture*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/agriculture11020085>
- Parodi, A., De Boer, I. J. M., Gerrits, W. J. J., Van Loon, J. J. A., Heetkamp, M. J. W., Van Schelt, J., Bolhuis, J. E., & Van Zanten, H. H. E. (2020). Bioconversion efficiencies, greenhouse gas and ammonia emissions during black soldier fly rearing – A mass balance approach. *Journal of Cleaner Production*, 271, 122488. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122488>
- Peñaranda-González, L. V., Montenegro-Gómez, S. P., & Giraldo-Abad, P. A. (2017). Exploitation of agroindustrial waste in Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 141–150.
- Reis, R. S., Tienne, L. G. P., Souza, D. de H. S., Marques, M. de F. V., & Monteiro, S. N. (2020). Characterization of coffee parchment and innovative steam explosion treatment to obtain microfibrillated cellulose as potential composite reinforcement. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(4), 9412–9421. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.05.099>
- Rocafuerte-Peña, J.I., Romero-Mota, D.I. & Méndez-Contreras, J.M. (2022). Fermentative action of *Bacillus subtilis* in the bioconversion of organic substrates. *Revista UPIICSA Investigación interdisciplinaria*, 8(1), 24-32.
- Rodjan, P., Soisuwan, K., Thongprajukaew, K., Theapparatt, Y., Khongthong, S.,

- Jeenkeawpieam, J., & Salaeharae, T. (2018). Effect of organic acids or probiotics alone or in combination on growth performance, nutrient digestibility, enzyme activities, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *102*(2), e931–e940. <https://doi.org/10.1111/jpn.12858>
- Romero-Mota, D.I., Estrada-García, J., Alvarado-Lassman, A., Méndez-Contreras, J.M. (2023). Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* During the Anaerobic Biotransformation Process of Agro-Sugarcane Waste. *Waste Biomass Valor.* <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02100-z>
- Ross-Alcudia, R. E., Bolio-López, G. I., Veleza, L., Azamar-Barrios, J. A., Hernández-Villegas, M. M., Pérez-Romero, J., Pérez-Romero, C. A., Correa-Durán, M. S., & Córdova-Sánchez, S. (2017). Planta piloto para obtención de celulosa de residuos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) y elaboración de recipientes biodegradables. *Agroproductividad*, *10*(11), 60–65. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/64/59>
- Rossoni, R. D., de Barros, P. P., de Alvarenga, J. A., Ribeiro, F. de C., Velloso, M. dos S., Fuchs, B. B., Mylonakis, E., Jorge, A. O. C., & Junqueira, J. C. (2018). Antifungal activity of clinical *Lactobacillus* strains against *Candida albicans* biofilms: identification of potential probiotic candidates to prevent oral candidiasis. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, *34*(2), 212–225. <https://doi.org/10.1080/08927014.2018.1425402>
- Ruan, Z., Wang, X., Liu, Y., & Liao, W. (2019). Corn. In *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00003-4>
- Ruvalcaba-Gómez, J. M., Arteaga-Garibay, R. I., Domínguez-Araujo, G., Galindo-Barboza, A. J., Salazar-Gutiérrez, G., Martínez-Peña, M. D., & Delgado-Macuil, R. J. (2019). Uso de bacterias ácido lácticas para descontaminación de estiércol porcino mediante ensilaje experimental. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, *35*(1), 247–257. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.01.18>
- Sadh, P.K., Duhan, S. & Duhan, J.S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresour. Bioprocess.* *5*, 1. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
- SAGARPA. (2017). *Planeación Agrícola Nacional - CAFÉ*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256426/B_sico-Caf_.pdf
- SAGARPA. (2017). *Planeación Agrícola Nacional - Maíz grano blanco y amarillo*. In *Planeación agrícola nacional 2017-2030: Vol. I*. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/planeacion-agricola-nacional-2017-2030-126813>

- SAGARPA, & SENASICA. (2016). Manual De Buenas Prácticas Pecuarias En La Producción De Pollo En Engorda. In *Manual De Buenas Prácticas Pecuarias En La Producción De Pollo En Engorda* (Segunda). <https://sistemaproductoaves.org.mx/aves/materiales.html>
- Sánchez-Valeriano, N., Romero-Mota, D.I., Rosas-Mendoza, E.S., Hernández-Aguilar, E., Méndez-Contreras, J.M. (2022a) Determination of kinetic parameters of the anaerobic biotransformation process of corn cob (*Zea Mays* L.) with *Lactobacillus acidophilus*. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability*. <https://doi.org/10.56845/rebs.v4i1.67>
- Sánchez-Valeriano, N., Romero-Mota, D.I., Estrada-García, J., Méndez-Contreras, J.M. & Hernández-Aguilar, E. (2022b) Revaluation of White corn waste (*Zea Mays* L.) to obtaining biomass with *Lactobacillus acidophilus*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México. Revista arbitrada* (ISSN: 2007-7807), 10 (1): 14-22.
- Santeramo, F. G., Lamonaca, E., Tappi, M., & Di Gioia, L. (2019). Considerations on the environmental and social sustainability of animal-based policies. *Sustainability*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/su11082316>
- Shanmugasundaram, R., Applegate, T. J., & Selvaraj, R. K. (2020). Effect of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* probiotic supplementation on cecal *Salmonella* load in broilers challenged with salmonella. *Journal of Applied Poultry Research*, 29, 808–816. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2020.07.003>
- Shin, D., Chang, S. Y., Bogere, P., Won, K. H., Choi, J. Y., Choi, Y. J., Lee, H. K., Hur, J., Park, B. Y., Kim, Y., & Heo, J. (2019). Beneficial roles of probiotics on the modulation of gut microbiota and immune response in pigs. *PLOS ONE*, 14(8), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220843>
- Shuler, M. L., Kargi, F., & DeLisa, M. (2017). *Bioprocess Engineering Basic Concepts*. Prentice Hall.
- SIAP. (2019). *Población Ganadera*. <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es>
- Singh, A. K., Tiwari, U. P., Berrocso, J. D., Dersjant-Li, Y., Awati, A., & Jha, R. (2019). Effects of a combination of xylanase, amylase and protease, and probiotics on major nutrients including amino acids and non-starch polysaccharides utilization in broilers fed different level of fibers. *Poultry Science*, 98(11), 5571–5581. <https://doi.org/10.3382/ps/pez310>
- Singhania, R. R., Patel, A. K., & Pandey, A. (2017). Biotechnology for Agricultural Waste Recycling. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Solid Waste Management*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63664-5.00010-1>
- Spann, R., Roca, C., Kold, D., Eliasson Lantz, A., Germaey, K. V., & Sin, G. (2018). A probabilistic model-based soft sensor to monitor lactic acid bacteria fermentations. *Biochemical Engineering Journal*, 135, 49–60.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.03.016>

- Stanbury, P. F., Whitaker, A., & Hall, S. J. (2017). Chapter 2 - Microbial growth kinetics. In *Principles of Fermentation Technology* (Third Edit, pp. 21–74). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099953-1/00002-8>
- Sunu, P., Sunarti, D., Mahfudz, L. D., & Yuniarto, V. D. (2021). Effect of synbiotic from *Allium sativum* and *Lactobacillus acidophilus* on hematological indices, antioxidative status and intestinal ecology of broiler chicken. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.12.005>
- Tangmankongworakoon, N. (2019). An approach to produce biochar from coffee residue for fuel and soil amendment purpose. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8, 37–44. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0267-5>
- Thakur, A., Panesar, P.S. y Saini, M.S. 2017. L(+)-Lactic acid production by immobilized *Lactobacillus casei* using low cost agro-industrial waste as carbon and nitrogen sources. *Waste and Biomass Valorization*. 10(5): 1119-1129.
- Theilmann, M. C., Goh, Y. J., Nielsen, K. F., Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., & Abou Hachem, M. (2017). *Lactobacillus acidophilus* Metabolizes Dietary Plant Glucosides and Externalizes Their Bioactive Phytochemicals. *MBio*. <https://doi.org/10.1128/mBio.01421-17>.
- Tjørve, K.M.C. y Tjørve, E. 2017. The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model aproach: An addition to the Unified-Richar family. *PLoS ONE*. 12(6): e0178691.
- Torres-León, C., Ramírez-Guzman, N., Londoño-Hernandez, L., Martinez-Medina, G. A., Díaz-Herrera, R., Navarro-Macias, V., Alvarez-Pérez, O. B., Picazo, B., Villarreal-Vázquez, M., Ascacio-Valdes, J., & Aguilar, C. N. (2018). Food Waste and Byproducts: An Opportunity to Minimize Malnutrition and Hunger in Developing Countries. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2(September), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00052>
- Valdés, S., Garita, C., Esquivel, C., & Villegas, L. R. (2020). Aislamiento y purificación de la enzima lacasa : evaluación de su potencial biodegradador en residuos agrícolas. *BioTecnología*, 24(2), 29–45. <https://smbb.mx/wp-content/uploads/2020/08/6-Valdes-et-al-2020.pdf>
- Vargas-Corredor, Y. A., & Pérez-Pérez, L. I. (2018). Use of agro-industrial waste in improving the quality of the environment. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 59–72. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.3108>
- Vieira, E.C., Pereira, V.D.S, Gomes, T.S.N., Hernández-Pérez, A.F., Virgínio, D.D.S., Dussán, K.J., Almeida, M.G.F. y De Carvalho, J.A. 2018. Physicochemical and thermal characteristics of sugarcane straw and its cellulignin. *Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering*. 40: 416.

- Wang, K., Cao, G., Zhang, H., Li, Q., & Yang, C. (2019). Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function, intestinal morphology, volatile fatty acids, and intestinal flora in a piglet model. *Food and Function*, 10, 7844–7854. <https://doi.org/10.1039/c9fo01650c>
- Wu, Y., Wang, B., Zeng, Z., Liu, R., Tang, L., Gong, L., & Li, W. (2019). Effects of probiotics *Lactobacillus plantarum* 16 and *Paenibacillus polymyxa* 10 on intestinal barrier function, antioxidative capacity, apoptosis, immune response, and biochemical parameters in broilers. *Poultry Science*, 98(10), 5028–5039. <https://doi.org/10.3382/ps/pez226>
- Yang, Y., Xie, L., Tao, X., Hu, K., & Huang, S. (2017). Municipal wastewater treatment by the bioaugmentation of *Bacillus* sp. K5 within a sequencing batch reactor. *PLoS ONE*, 12(6), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178837>
- Yafetto, L. (2022). Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis, *Heliyon*, 8(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09173>
- Yafetto, L., Tawia Odamtten, G., Wiafe-Kwagyan, M. (2023). Valorization of agro-industrial wastes into animal feed through microbial fermentation: A review of the global and Ghanaian case. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14814>
- Yazid, N. A., Barrena, R., Komilis, D., & Sánchez, A. (2017). Solid-state fermentation as a novel paradigm for organic waste valorization: a review. *Sustain* 9 (2): 224.
- Zhang, P., Huang, L., Zhang, E., Yuan, C., & Yang, Q. (2021). Oral administration of *Bacillus subtilis* promotes homing of CD3+ T cells and IgA-secreting cells to the respiratory tract in piglets. *Research in Veterinary Science*, 136, 310–317. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.03.006>.
- Zhang, Z., Zhou, Y., Zhang, J., Xia, S., & Hermanowicz, S. W. (2016). Effects of short-time aerobic digestion on extracellular polymeric substances and sludge features of waste activated sludge. *Chemical Engineering Journal*, 299, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.047>
- Zhao, Y., Hong, K., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2019). *Lactobacillus fermentum* and its potential immunomodulatory properties. *Journal of Functional Foods*, 56, 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.044>
- Zhen, N., Zeng, X., Wang, H., Yu, J., Pan, D., Wu, Z., & Guo, Y. (2020). Effects of heat shock treatment on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* after freeze-drying. *Food Research International*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109507>
- Zheng, P. X., Fang, H. Y., Yang, H. B., Tien, N. Y., Wang, M. C., & Wu, J. J. (2016). *Lactobacillus pentosus* strain LPS16 produces lactic acid, inhibiting multidrug-resistant *Helicobacter pylori*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49(2), 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.04.014>

PRODUCTOS ACADÉMICOS

- 2023 Estrada-García, J., Hernández-Aguilar, E., Romero-Mota, D.I., Méndez-Contreras, J.M. Influence of anaerobic biotransformation process of agro-industrial waste with *Lactobacillus acidophilus* on the rheological parameters: case of study of pig manure. *Arco Microbiol.* 205 (99). <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03437-8>
- 2023 Romero-Mota, D.I., Estrada-García, J., Alvarado-Lassman, A., Méndez-Contreras, J.M. Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* During the Anaerobic Biotransformation Process of Agro-Sugarcane Waste. *Waste Biomass Valor.* <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02100-z>
- 2022 Rocafuerte-Peña, J.I., Romero-Mota, D.I. & Méndez-Contreras, J.M. 2022. Fermentative action of *Bacillus subtilis* in the bioconversión of organic substrates. *Revista UPIICSA Investigación interdisciplinaria*, 8(1), 24-32.
- 2022 Sánchez-Valeriano, N., Romero-Mota, D.I., Estrada-García, J., Méndez-Contreras, J.M. & Hernández-Aguilar, E. Revaluation of White corn waste (*Zea Mays L.*) to obtaining biomass with *Lactobacillus acidophilus*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México*. Revista arbitrada (ISSN: 2007-7807), 10 (1): 14-22.
- 2022 Sánchez-Valeriano, N., Romero-Mota, D.I., Rosas-Mendoza, E.S., Hernández-Aguilar, E. & Méndez-Contreras, J.M. 2022. Determination of kinetic parameters of the anaerobic biotransformation process of corn cob (*Zea Mays L.*) with *Lactobacillus acidophilus*. *Renewable Energy, Biomass and Sustainability*. <https://doi.org/10.56845/rebs.v4i1.67>
- 2021 Romero-Mota, D.I., Estrada-García, J., Alvarado-Lassman, J., Bolaños-Reynoso, E. & Méndez-Contreras, J.M. Modelación matemática del consumo de sustrato en el proceso de bioconversión de residuos agrocañeros con *Lactobacillus acidophilus*. *Avances en Ingeniería Química*. Revista arbitrada (ISSN: 2683-2925), 1(3): 750-755.