



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

**PROGRAMA DE POSGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA
SUSTENTABLE**

**DISEÑO DE UN PROCESO DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO UTILIZANDO
BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE
SACAROSA**

JORGE FRANCISCO CASTILLO MARTÍNEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO


2022

La presente tesis, titulada: **Diseño de un proceso de producción de ácido láctico utilizando bacterias ácido lácticas aisladas del proceso de extracción de sacarosa**, realizada por el alumno: **Jorge Francisco Castillo Martínez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


MAESTRO EN CIENCIAS

MAESTRÍA EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. RICARDO HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR: 
DR. MANUEL ALEJANDRO LIZARDI JIMÉNEZ

ASESOR: 
DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ ROSAS

ASESOR: 
DRA. MARÍA ANTONIETA RÍOS CORRIPIO

ASESOR: 
DRA. ELIZABETH DEL CARMEN VARELA SANTOS

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, **febrero 2022.**

DISEÑO DE UN PROCESO DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO UTILIZANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE SACAROSA

Jorge Francisco Castillo Martínez, M.C.
Colegio de postgraduados, 2022

En México la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) es uno de los cultivos agroalimentarios más notables debido a la importancia económica que representa (4.5% del PIB agrícola nacional), a partir de la cual se produce sistemáticamente sacarosa. Actualmente se requiere un esquema de modernización mediante la diversificación productiva, valorizando los coproductos que se generan (bagazo, melaza). El objetivo del presente trabajo fue diseñar un proceso de producción de ácido láctico utilizando bacterias ácido lácticas aisladas del proceso de extracción de sacarosa como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera. Se evaluó el potencial para la producción de ácido láctico mediante modelos econométricos. El resultado de los modelos econométricos indicó que las cuatro regiones cañeras evaluadas de Veracruz (Córdoba-Golfo, Papaloapan-Golfo, Centro y Noreste) tienen potencial productivo de ácido láctico resaltando las regiones Papaloapan-Golfo (2.6 millones de toneladas) y Córdoba-Golfo (1.6 millones de toneladas), encontrando como factores que definen la oferta potencial a los días de zafra y precio de importación. Asimismo, se caracterizaron bioquímicamente 11 aislamientos bacterianos y se analizó cualitativamente el producto de su metabolismo mediante un análisis FT-IR. Los resultados de la caracterización demostraron que 4 aislamientos (JF3, ML2, JF2 y ML1) tienen las características bioquímicas para ser consideradas bacterias ácido lácticas y asimismo el análisis FT-IR comprobó que el producto del metabolismo de los 4 aislamientos es ácido láctico. Finalmente se determinó el efecto de la fuente de carbono (glucosa, sacarosa y melaza) sobre los rendimientos

de ácido láctico. El resultado demostró que utilizando melaza se obtuvieron rendimientos más altos de ácido láctico JF3 (10.40 g/L), ML2 (6.82 g/L), JF2 (6.39 g/L) y ML1 (4.5 g/L).

Palabras Clave: Agroindustria azucarera, diversificación productiva, biotecnología.

DESIGN OF A LACTIC ACID PRODUCTION PROCESS USING ISOLATED LACTIC ACID BACTERIA FROM THE SUCROSE EXTRACTION PROCESS

Jorge Francisco Castillo Martínez, M.C.

Colegio de postgraduados, 2022

In Mexico, sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) is one of the most notable agri-food crops due to its economic importance (4.5% of the national agricultural GDP), from which sucrose is systematically produced. Currently, a modernization scheme is required through productive diversification, valuing the co-products that are generated (bagasse, molasses). The objective of this work was to design a lactic acid production process using lactic acid bacteria isolated from the sucrose extraction process as an alternative for the diversification of the sugar agroindustry. The potential for lactic acid production was evaluated using econometric models. The result of the econometric models indicated that the four evaluated sugarcane regions of Veracruz (Córdoba-Gulf, Papaloapan-Gulf, Center and Northeast) have productive potential for lactic acid, highlighting the Papaloapan-Gulf (2.6 million tons) and Córdoba-Gulf regions. (1.6 million tons), finding as factors that define the potential offer the days of the harvest and the import price. Likewise, 11 bacterial isolates were biochemically characterized and the product of their metabolism was qualitatively analyzed by means of FT-IR analysis. The results of the characterization showed that 4 isolates (JF3, ML2, JF2 and ML1) have the biochemical characteristics to be considered lactic acid bacteria and the FT-IR analysis confirmed that the product of metabolism of the 4 isolates is lactic acid. Finally, the effect of the carbon source (glucose, sucrose and molasses) on the lactic acid yields was determined. The result showed that using molasses higher yields of lactic acid JF3 (10.40 g/L), ML2 (6.82 g/L), JF2 (6.39 g/L) and ML1 (4.5 g/L) were obtained.

Keywords: Sugar agroindustry, productive diversification, biotechnology.

Agradecimientos

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico brindado en la beca 2020-000013-01NACF-00038.

Al **Colegio de Postgraduados Campus Córdoba** y muy en particular al **laboratorio de Biotecnología Microbiana Aplicada (BIOMA)** por permitirme ser su alumno y brindarme todas las facilidades necesarias para el uso de sus instalaciones.

A todo mi **Consejo Particular**, por todos sus valiosos consejos y aportes a mi investigación.

Dr. Ricardo Hernández Martínez, por su guía, dirección y enseñanzas en esta investigación, así como también su amistad.

A mis compañeros de laboratorio y amigos del colegio: **José y David**, por siempre apoyarme y capacitarme en el uso de los equipos de laboratorio, **Marisol, Diana, Ruth y Alejandra**, por los buenos momentos compartidos.

A mi hermana **Susana** quien me apoyó y motivó en todo este proceso, **a mis padres** por su apoyo y guía.

Contenido

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1 Estrategias para la diversificación productiva sustentable en la agroindustria azucarera a través de coproductos | 3 |
| 1.2 Ácido láctico | 7 |
| 1.2.1 Microorganismos productores de ácido láctico | 9 |
| 1.2.2 Ruta metabólica del ácido láctico | 11 |
| 1.3 Aplicaciones del ácido láctico | 12 |
| 2. Justificación | 13 |
| 3. Hipótesis | 14 |
| 4. Objetivos | 14 |
| 4.1 General | 14 |
| 4.2 Específicos | 14 |
| 5. Materiales y métodos | 15 |
| 5.1.1 Región de estudio | 15 |
| 5.1.2 Inventario de productos, subproductos, coproductos y selección de suproductos y/o coproductos a estudiar | 16 |
| 5.1.3 Análisis teórico de la oferta potencial de ácido láctico. | 17 |
| 5.1.4 Selección de variables | 17 |
| 5.1.5 Construcción y selección de modelos econométricos | 18 |
| 5.2.1 Caracterización bioquímica de aislamientos bacterianos y preselección de aislamientos bacterianos | 18 |
| 5.2.2 Producción de ácido láctico | 20 |
| 5.2.3 Determinación cualitativa de ácido láctico por FT-IR y selección de aislamientos bacterianos | 21 |
| 5.3.1 Preparación de inóculo | 22 |
| 5.3.2 Cultivo en medio líquido | 22 |
| 5.3.3 Cuantificación de biomasa por conteo en cámara | 23 |
| 5.3.4 Determinación de pH | 23 |
| 5.3.5 Determinación de ácidos orgánicos | 23 |
| 5.3.6 Determinación de azúcares reductores | 24 |
| 5.3.7 Determinación espectrofotométrica de ácido láctico | 24 |
| 6. Resultados y discusión | 25 |
| 6.1.1 Inventario de productos, subproductos y coproductos. | 25 |

| | |
|--|----|
| 6.1.2 Oferta teórica de ácido láctico..... | 25 |
| 6.1.3 Análisis de modelos econométricos..... | 27 |
| 6.2.1 Caracterización bioquímica de aislamientos bacterianos y preselección de aislamientos bacterianos..... | 32 |
| 6.2.2 Ajuste al modelo de Gompertz..... | 34 |
| 6.2.3 Determinación de la capacidad de producción de ácido láctico..... | 35 |
| 6.3.1 Efecto de la fuente de carbono sobre los rendimientos de ácido láctico..... | 36 |
| 7. Conclusión | 45 |
| 8. Referencias bibliográficas | 46 |
| Anexos | 59 |
| A. Curva patrón de azúcares reductores (Rango de detección: 0.078-5 g/L) ... | 59 |
| B. Curva patrón para determinación de ácido láctico (rango de detección: 0.166-10.63 g/L) | 60 |
| C. Reactivos del medio Hugh-Leifson..... | 61 |

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 Obtención biotecnológica de ácido láctico y síntesis química de ácido poliláctico a partir de los subproductos bagazo y melaza..... | 7 |
| Figura 2 Síntesis química y biotecnológica del ácido láctico..... | 9 |
| Figura 3 Rutas metabólicas del ácido láctico (Lactato). a) Vía Homofermentativa, b) Vía Heterofermentativa..... | 12 |
| Figura 4 Estrategia experimental de producción de ácido láctico utilizando bacterias aisladas del proceso de extracción de sacarosa..... | 15 |
| Figura 5 Ingenios azucareros por región cañera en el estado de Veracruz..... | 16 |
| Figura 6 Potencial de producción de ácido láctico a partir de coproductos de la agroindustria azucarera de las regiones cañeras de Veracruz, ciclos 2010-2011 al 2019-2020, a) bagazo, b) melaza, c) volumen teórico de ácido láctico a partir de bagazo y d) volumen teórico de ácido láctico a partir de melaza..... | 26 |
| Figura 7 Histórico del comercio internacional del producto ácido láctico en México, periodo 2010-2019. | 27 |
| Figura 8 Oferta potencial de ácido láctico como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera en Veracruz, México | 32 |
| Figura 9 Espectros FT-IR de ácido láctico, A) Aislamiento JF2, B) Aislamiento JF3, C) Aislamiento ML1, D) Aislamiento ML2..... | 36 |
| Figura 10 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento JF3, A) Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza..... | 38 |

| | |
|---|----|
| Figura 11 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento ML2, A)Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza. | 40 |
| Figura 12 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento JF2, A)Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza. | 42 |
| Figura 13 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento ML1, A)Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza. | 44 |

Lista de cuadros

| | |
|---|----|
| Cuadro 1 Bacterias productoras de ácido láctico. | 10 |
| Cuadro 2. Modelos econométricos de factores que determinan la oferta potencial de ácido láctico en Veracruz. | 28 |
| Cuadro 3 Caracterización bioquímica de los aislamientos obtenidos del proceso de extracción de sacarosa | 33 |
| Cuadro 4 Parámetros de cinéticos de los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3. | 34 |

1. Introducción

En México la agroindustria de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) es muy importante para la economía. Actualmente a nivel mundial ocupa el sexto lugar en la producción de caña de azúcar a nivel mundial, con un volumen de 51.3 millones de toneladas de caña bruta molida en la última zafra (2020-2021).

Por otra parte, de acuerdo con la CONADESUCA (2021), Veracruz ocupa el primer lugar de producción a nivel nacional ya que en esta entidad se localizan 18 de los 51 ingenios nacionales para el año 2021. Sin embargo, los coproductos y subproductos que se generan en la agroindustria de la caña tales como ceniza de calderas, paja y cogollo, gases de combustión, vinaza, cachaza; melaza y bagazo no son valorizados ya que actividad industrial se limita a la producción de sacarosa y etanol, dando oportunidad a la diversificación productiva de esta agroindustria (Aguilar-Rivera *et al.*, 2017).

La innovación productiva adoptada en la agroindustria azucarera por países como Australia (concepto de biorrefinería) (Bell, 2017), Brasil (Albarelli *et al.*, 2018) y Tailandia (Silalertruksa *et al.*, 2017) ha permitido dotar de valor agregado a los coproductos y subproductos generados, esta estrategia mejora las condiciones de comercialización, calidad y variedad de los productos, incrementando su valor en cada etapa de su producción y es importante ya que implica la generación de empleos e inversiones forjando procesos sustentables (Llanes-Gil-López *et al.*, 2017).

Los productos con valor agregado que se pueden producir son biocombustibles tales como biohidrógeno, etanol, fibras de carbono, celulosa, alimento animal, papel, detergentes, aceites lubricantes, pinturas electricidad, ácido láctico y bioplásticos, entre otros (Aguilar-Rivera, 2017a).

El ácido láctico es una opción poco explorada, como coproducto, que tiene una amplia gama de aplicaciones en la industria alimenticia, cosmética, química y como molécula precursora a partir del cual se pueden producir biopolímeros biodegradables como el ácido poliláctico (Llanes-Gil-López *et al.*, 2017).

La producción de biopolímeros a partir de ácido láctico da una alternativa a la contaminación por plásticos derivados del petróleo ya que de acuerdo con la SEMARNAT (2018) anualmente se producen aproximadamente 300 millones de toneladas de residuos plásticos y en el contexto mexicano de acuerdo con Greenpeace (2019), en México se producen más de siete millones de toneladas de plástico de los cuales el 48% es utilizado para elaboración de envases que en su mayoría son desechados y Veracruz es el cuarto estado que más residuos sólidos urbanos genera en México (SEMARNAT, 2020).

Esta problemática acentúa la necesidad de ofertar productos amigables generados a partir de la diversificación productiva. A pesar de que ya hay una legislación al respecto donde la Legislatura del Estado de Veracruz (2018), incorpora reformas en la Ley de Prevención y Gestión Integral de Residuos Sólidos Urbanos y de Manejo Especial para el Estado de Veracruz para reducir el uso de bolsas de plástico y productos homólogos, de acuerdo con Narciso-Ortiz *et al.*, (2020) existen evidencias de contaminación por plásticos en el agua proveniente de arrecifes, ríos y playas de Veracruz.

Debido a lo anterior, la producción de ácido láctico, a partir de la melaza y el bagazo producidos en la agroindustria azucarera, puede ser una alternativa de diversificación conveniente en México, debido a esto, el presente estudio plantea como objetivo diseñar un proceso de producción de ácido láctico utilizando bacterias ácido lácticas aisladas del

proceso de extracción de sacarosa como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera.

1.1 Estrategias para la diversificación productiva sustentable en la agroindustria azucarera a través de coproductos

De acuerdo con la SEMARNAT, (2021) la productividad sustentable se define como el uso eficiente de recursos, maximizando el valor de los materiales en cada una de las etapas del proceso de producción, reduciendo los impactos ambientales. El análisis de estrategias de diversificación productiva sustentables en la agroindustria azucarera en los principales países productores (Brasil, India y Tailandia) y la comercialización de coproductos de la caña de azúcar, como el ácido láctico, es un punto de partida importante para evaluar la factibilidad técnico-económica de implementar una estrategia de diversificación sustentable en el contexto de México y en particular en Veracruz.

En Brasil, la innovación tecnológica en la agroindustria azucarera mediante la aplicación del modelo de biorrefinería ha sido clave del crecimiento y la competitividad, poniendo un fuerte enfoque en la diversificación de bioproductos investigando la producción de biocombustible a partir de microalgas (Albarelli *et al.*, 2018).

De acuerdo con Gonçalves *et al.*, (2021), la industria de la caña de azúcar en Brasil ha sido fuertemente impulsada por programas gubernamentales como el caso del programa RenovaBio el cual busca para el 2030 reducir las emisiones de gases de efecto invernadero.

Es indispensable la aplicación de la diversificación productiva a través de la innovación de tecnologías que permitan aprovechar de manera eficiente los subproductos como lo

es la melaza, en Brasil se produce biohidrógeno a partir de melaza de caña de azúcar (Fuess *et al.*, 2020).

De acuerdo con Deogharia (2020) la agricultura es la actividad más importante de la economía india ya que genera empleo a aproximadamente un 60 por ciento de la economía de ese país, y para poder crecer es necesario diversificar.

En la agroindustria azucarera de la India los ingenios azucareros se ubican entre los más importantes del mundo por su ahorro en bagazo, el cual es una materia prima potencial para el etanol celulósico adoptando la diversificación productiva (Raj y Krishnan, 2020).

En Tailandia, la agroindustria de la caña de azúcar es reconocida como un sector importante. En el 2014, la exportación de azúcar y de coproductos de la agroindustria azucarera aportó a la economía de ese país alrededor de US \$ 2,462 millones. Además, desempeña un papel importante como proveedor de bioenergía debido a que la caña de azúcar tiene una alta proporción de biomasa sólida y de azúcares fácilmente fermentables que se pueden utilizar como biocombustibles y para la producción de coproductos como el ácido láctico para producir bioplásticos (Silalertruksa *et al.*, 2017).

Tailandia estudia nuevas formas de aprovechamiento de biorrefinería como por ejemplo el sistema de generación de azúcar-electricidad-ácido poliláctico lo cual mejora la sostenibilidad ambiental al aportar alternativas para la problemática de la contaminación por plásticos (Silalertruksa y Gheewala, 2020).

Por su parte Australia enfoca su industria de los biocombustibles a partir del aprovechamiento de lignocelulósicos derivados del bagazo lo cual demuestra la relevancia de la diversificación productiva (Bell, 2017).

De acuerdo con Aguilar-Rivera (2017a), el mercado azucarero en México no solo se limita a la producción de sacarosa, sino también existen coproductos y subproductos derivados de la fibra y del jugo de caña como: vinaza, cachaza y alcohol; a partir de los cuales se puede producir: alimento animal, papel, combustible, detergentes, aceites lubricantes y pinturas.

En estudios realizados por Gutiérrez-Villanueva *et al.*, (2020) propone el aprovechamiento de la lignina que se genera en la hidrólisis del bagazo para elaborar fibras de carbono, vainillina y derivados del fenol. Por su parte Tuquerres-Curipallo *et al.*, (2020) diseñó un proceso para la obtención de ácido cítrico como coproducto derivado del bagazo de caña y Zhang *et al.*, (2020) en estudios recientes plantean el uso de agua de mar en el pretratamiento del bagazo de caña de azúcar para la producción de xilooligosacáridos, los cuales son demandados en la industria alimentaria y farmacéutica. En México, a pesar de que los coproductos derivados de la caña de azúcar representan una importante área de oportunidad para el desarrollo de la agroindustria azucarera, se le ha dado poca importancia a su producción y comercialización. Además, existe un mercado no explorado de los productos energéticos como: etanol, biodiesel y gas sintético. Por este motivo, en México hay una urgente necesidad de diversificar la producción en la agroindustria azucarera a través de la generación de coproductos derivados de los procesos industriales para la producción de azúcar, a partir de la utilización de subproductos (Aguilar-Rivera, 2017b).

De acuerdo con Ávila-Foucat (2017) el sector primario a nivel nacional presenta problemas en la producción debido a sus altos costos de producción y poca competitividad debido a que no hay diversificación de mercados. En estudios recientes

de Villegas-Vilchis *et al.*, (2020) se concluye que para que la agroindustria cañera mexicana sea competitiva es necesaria la diversificación productiva ofertando al mercado productos derivados de caña de azúcar a precios competitivos.

Para lograr la diversificación sustentable en la agroindustria de la caña de azúcar en México es indispensable realizar investigación científica que contribuya a generar nuevos conocimientos sobre la utilización óptima de los residuos agroindustriales derivados de la producción de azúcar de caña, reduciendo así la contaminación ambiental, ya que de acuerdo con Sahu, (2018) la agroindustria azucarera genera una gran cantidad de aguas residuales en todas las etapas de la producción de azúcar con una cantidad inaceptable de sustancias orgánicas e inorgánicas, incluidos los contaminantes gaseosos y sólidos debido a la mala gestión y estandarización industrial, asimismo Cardoso *et al.*, (2018) concluyó que la quema de paja tiene un impacto ambiental alto debido a las emisiones de gases de efecto invernadero no controlados en la quema de campo, una alternativa para la problemática ambiental es el aprovechamiento de los residuos agroindustriales mediante la producción de coproductos como el ácido láctico, el cual es indispensable para sintetizar ácido poliláctico como se muestra en la Figura 1 (Tejeda-Tovar *et al.*, 2018).

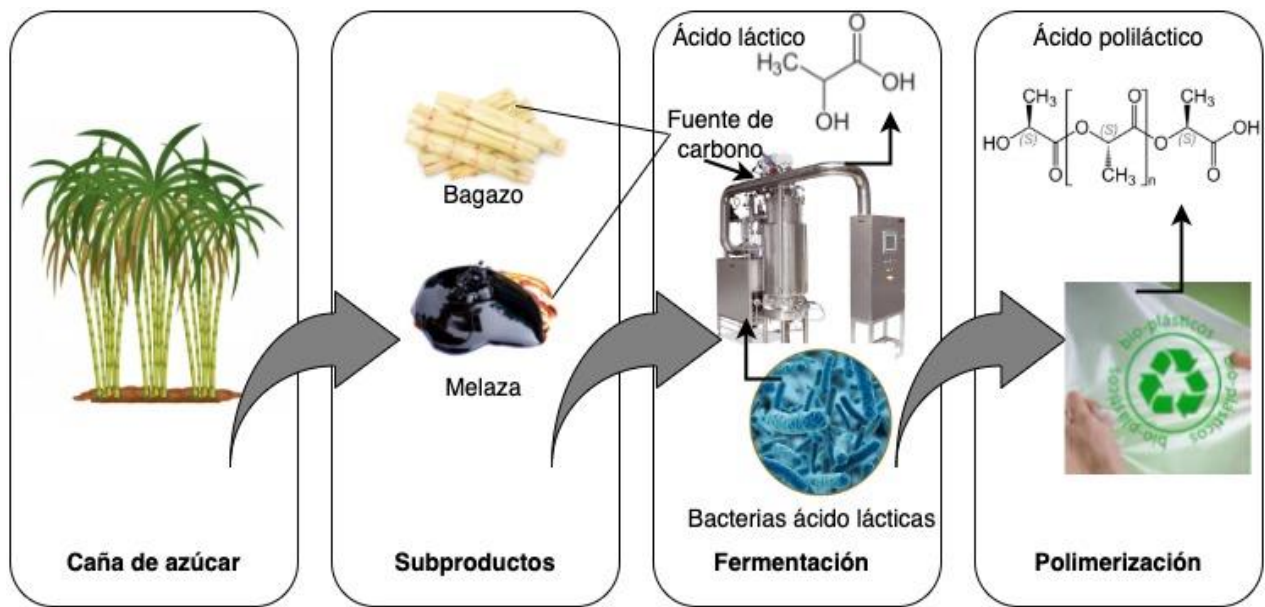


Figura 1 Obtención biotecnológica de ácido láctico y síntesis química de ácido poliláctico a partir de los subproductos bagazo y melaza.

Fuente: Elaboración propia

La investigación científica biotecnológica demuestra que es posible producir ácido láctico a partir de subproductos de caña de azúcar; para el caso del subproducto bagazo, Alves *et al.*, (2019) reportó un rendimiento de 0.87 kg producto/kg sustrato. Adicionalmente, Anaya-Reza y López-Arenas (2018) reportaron un rendimiento de ácido láctico de 0.97 kg producto/kg sustrato.

1.2 Ácido láctico

En los últimos años el ácido láctico ha generado interés debido a sus amplias aplicaciones en la industria alimentaria, así como en la industria química sirviendo como molécula precursora para sintetizar polímeros biodegradables como el ácido poliláctico. El ácido láctico forma parte de la familia de los ácidos orgánicos y fue descubierto por primera vez por Karl Wilhem Scheele en 1780 (Guauque y Gómez, 2019).

El ácido láctico puede ser producido por síntesis química o por vía biotecnológica por medio de fermentación, actualmente la mayor parte del ácido láctico producido en el mundo se obtiene por vía fermentativa (Eş *et al.*, 2018).

De acuerdo con Ahmad *et al.*, (2020) cuando es producido por síntesis química se genera una mezcla de ácido láctico en sus dos isómeros D y L, lo cual a nivel industrial genera costos adicionales debido al proceso de separación, en cambio cuando se produce por vía fermentativa se produce en su forma D ó L según el tipo de microorganismo que se utilice en la fermentación, (Figura 2).

Como se muestra en la Figura 2, para la síntesis química el acetaldehído reacciona con cianuro de hidrógeno en una reacción catalítica para producir lactonitrilo el cual posteriormente es hidrolizado con ácido sulfúrico para dar lugar a la mezcla isomérica de ácido láctico D y L. En la ruta biotecnológica utilizando recursos renovables, éstos son pre-tratados por hidrólisis ácida o bien enzimática para obtener azúcares fermentables los cuales por medio de una fermentación microbiana producen ácido láctico ópticamente puro ya sea D ó L según sea el tipo de microorganismo utilizado en la fermentación (Ahmad *et al.*, 2020).

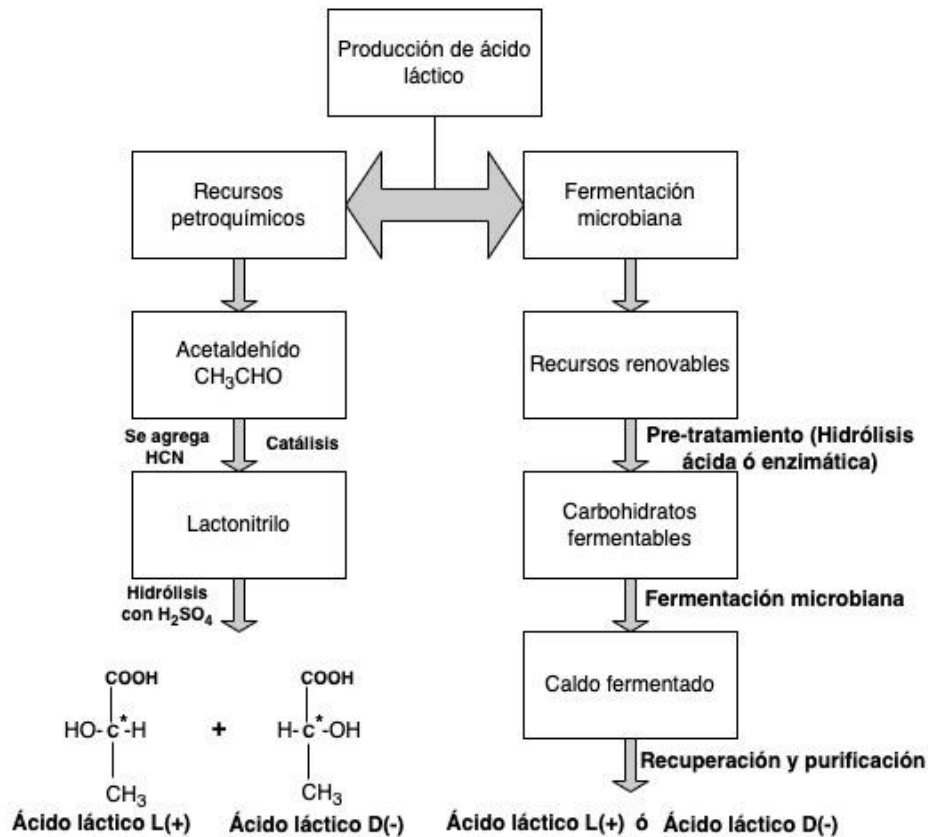


Figura 2 Síntesis química y biotecnológica del ácido láctico.

Fuente: Reproducción de Ahmad *et al.*, (2020).

El ácido láctico también llamado ácido 2-hidroxipropanoico en su forma líquida y en estado puro es incoloro con una densidad específica de 1.2 y una constante de disociación K_a de 1.38×10^{-4} lo cual lo convierte en un ácido débil, su punto de ebullición es de 122°C y el de fusión de 17°C (Ameen y Caruso, 2017).

1.2.1 Microorganismos productores de ácido láctico

Los microorganismos productores de ácido láctico, también llamados bacterias ácido lácticas entre sus principales características se tiene que son Gram positivas, no cuentan con la capacidad de producir esporas, ni las enzimas catalasa y oxidasa. Son muy

adaptables y se pueden desarrollar en ambientes con pH desde 3.2 a 9.6 y temperaturas desde 5°C hasta 45 °C (Alves de Oliveira *et al.*, 2018).

De acuerdo con Castillo-Martínez *et al.*, (2013) las bacterias ácido lácticas se dividen en dos principales grupos: homofermentativo en el cual los microorganismos utilizan la ruta metabólica de la glucólisis o Embden-Meyerhof y su principal producto de fermentación es el ácido láctico; heterofermentativo en el cual los microorganismos producen coproductos adicionales al ácido láctico como el CO₂, etanol y/o ácido acético.

Los principales géneros de bacterias ácido lácticas contemplan los siguientes microorganismos: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Paralactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, and *Weissella* los cuales producen ácido láctico utilizando como fuente de carbono las hexosas (Ameen y Caruso, 2017).

En la actualidad existe una amplia gama de fuentes de carbono (Cuadro 1) que los microorganismos pueden utilizar para la producción de ácido láctico.

Cuadro 1 Bacterias productoras de ácido láctico.

| Bacteria | Método | Fuente de Carbono | Concentración (g/L) | Tiempo (h) | Referencia |
|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|---------------------|------------|---------------------------------------|
| <i>Lactobacillus pentosus</i> | Lote alimentado | Rastrojo de maíz | 74.8 | --- | Cubas-Cano <i>et al.</i> , 2018 |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> | Lote | Biopulpa pretratada | 16.1 | 4 | Alvarado-Morales <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Pediococcus acidilactici</i> | Lote alimentado | Desechos alimentarios | 32.1 | 72 | Zhang <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactobacillus</i> | Fermentación cíclica y discontinua | Pulpa de dátiles | 21.6 | 192 | Ahmad <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | Lote | Xilosa | 22 | --- | Abdel-Rahman <i>et al.</i> , 2021a |
| | | Residuos de pera y suero de queso | | 72 | |
| <i>Lactobacillus casei</i> | Lote | ricotta | 38.8 | | Costa <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> CRA52 | Lote | Suero permeado | 17.69 | --- | Sharma <i>et al.</i> , 2021 |

| | | | | | |
|---|----------------------------|--------------------------|-------|-----|------------------------------------|
| <i>Enterococcus hirae ds10</i> | Lote repetido (16 ciclos) | Melaza de caña de azúcar | 61.76 | 30 | Abdel-Rahman <i>et al.</i> , 2021b |
| <i>L. delbrueckii</i> | Lote | Desechos de yuca | 17.75 | --- | Gali <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i> | Lote | Almidón de camote | 37.06 | 72 | Cheng <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> | Fermentación estado sólido | Residuos de panadería | 28 | 72 | Sadaf <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | Lote | Biomasa lignocelulósica | 61.74 | 44 | Pontes <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> | Lote | Subproductos de piña | 14.64 | 16 | Ngouénam <i>et al.</i> , 2021 |

Como se puede observar en el Cuadro 1 los estudios más recientes sobre la producción de ácido láctico se basan en el aprovechamiento de residuos agroalimentarios mediante la valorización productiva sustentable.

1.2.2 Ruta metabólica del ácido láctico

Las principales rutas metabólicas para la producción de ácido láctico son la vía Embden-Meyerhof-Parnas para los microorganismos homofermentativos y la vía de las pentosas fosfato para los microorganismos heterofermentativos (Ameen y Caruso, 2017).

Para la vía Embden-Meyerhof-Parnas o también llamada glucólisis la glucosa se convierte en ácido pirúvico el cual posteriormente es reducido a ácido láctico, por otro lado en la vía de las pentosas fosfato la glucosa se descompone formando gliceraldehído 3-fosfato, acetilfosfato y CO. El gliceraldehído 3-fosfato toma la ruta de la glucólisis formando ácido láctico y el acetilfosfato se convierte en ácido acético y/o etanol tal como se muestra en la Figura 3 (Castillo-Martínez *et al.*, 2013).

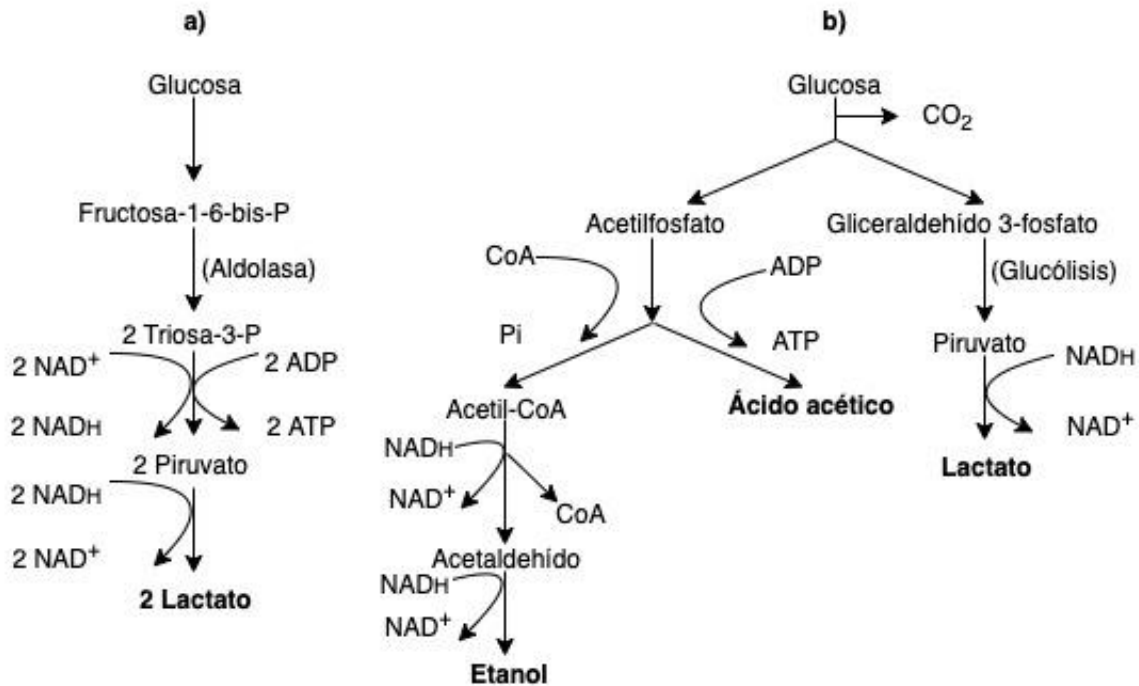


Figura 3 Rutas metabólicas del ácido láctico (Lactato). a) Vía Homofermentativa, b) Vía Heterofermentativa.

Fuente: Modificado de Castillo-Martínez *et al.*, 2013 y Gläzle, 2015.

1.3 Aplicaciones del ácido láctico

En la actualidad el ácido láctico es utilizado en diferentes industrias debido a sus diferentes aplicaciones, como por ejemplo en la industria de la peletería se utiliza para curtir cuero y diversas pieles; en la industria cosmética como humectante y en la industria química como materia prima para producir polímeros biodegradables como el ácido poliláctico (Peng *et al.*, 2020).

El ácido láctico es ampliamente utilizado en la industria alimentaria principalmente en el procesamiento y conservación de cárnicos, elaboración de quesos y yogurt y en la preservación de alimentos fermentados (Raj *et al.*, 2021).

A pesar que el ácido láctico como molécula precursora del ácido poliláctico es una opción para la problemática de la contaminación por plásticos derivados del petróleo en la

actualidad es una tecnología que necesita investigación y desarrollo para ser económicamente competitiva en comparación con los plásticos derivados del petróleo, por este motivo en la actualidad se exploran diferentes aplicaciones que sean competitivas y amigables al ambiente como por ejemplo en la industria química utilizándolo como neutralizador, limpiador, regulador de pH y disolvente; en la industria farmacéutica en soluciones para diálisis e intravasculares (Ahmad *et al.*, 2020).

Además que los productos de plástico derivado del petróleo ya se están cuestionando y reduciendo su uso en el ámbito jurídico, por ejemplo: el artículo 107, fracción X, de la Ley Ambiental del Estado de San Luis Potosí prohíbe el uso de envases de un solo uso como el unigel (Ley Ambiental del Estado de San Luis Potosí, 2019).

2. Justificación

En la actualidad la agroindustria azucarera mexicana se encuentra en una situación de bajos rendimientos agrícolas además que utiliza un esquema tradicional de producción donde principalmente se produce sacarosa y etanol motivo por el cual la diversificación productiva es necesaria para impulsar el desarrollo económico de esta agroindustria (Sánchez, 2020).

En este mismo esquema tradicional los residuos son poco valorizados por lo cual se abre una ventana de oportunidad a la sustentabilidad agregando valor a los subproductos que la agroindustria azucarera genera tales como paja, cogollo, vinazas, cachaza; melaza y bagazo y a partir de ellos producir coproductos amigables al ambiente tales como el ácido láctico, innovando en el sector azucarero mexicano a partir de la diversificación productiva (Aguilar-Rivera *et al.*, 2017).

Lo innovador del proyecto de investigación es utilizar microorganismos autoctonos del proceso de extracción de sacarosa los cuales se encuentran adaptados a las condiciones del proceso y utilizarlos para la producción de ácido láctico utilizando como fuente de carbono subproductos de la misma agroindustria azucarera para valorizarlos mediante un esquema de diversificación productiva sustentable.

3. Hipótesis

El uso de bacterias ácido lácticas aisladas del proceso de extracción de sacarosa permitirá el diseño de un proceso para la producción de ácido láctico a partir de productos y/o subproductos y/o coproductos como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera.

4. Objetivos

4.1 General

Diseñar un proceso de producción de ácido láctico utilizando bacterias ácido lácticas aisladas del proceso de extracción de sacarosa a partir de productos y/o subproductos y/o coproductos de la agroindustria azucarera como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera.

4.2 Específicos

- Analizar el potencial de producción de ácido láctico como alternativa de diversificación al agregar valor a productos y/o subproductos y/o coproductos de la agroindustria azucarera mediante modelos econométricos.
- Seleccionar aislamientos de bacterias con capacidad de producción de ácido láctico.

- Determinar el efecto de la fuente de carbono sobre los rendimientos de ácido láctico.

5. Materiales y métodos

A continuación se presenta la estrategia experimental general para el diseño de un proceso de producción de ácido láctico utilizando bacterias ácido lácticas aisladas del proceso de extracción de sacarosa (Figura 4).

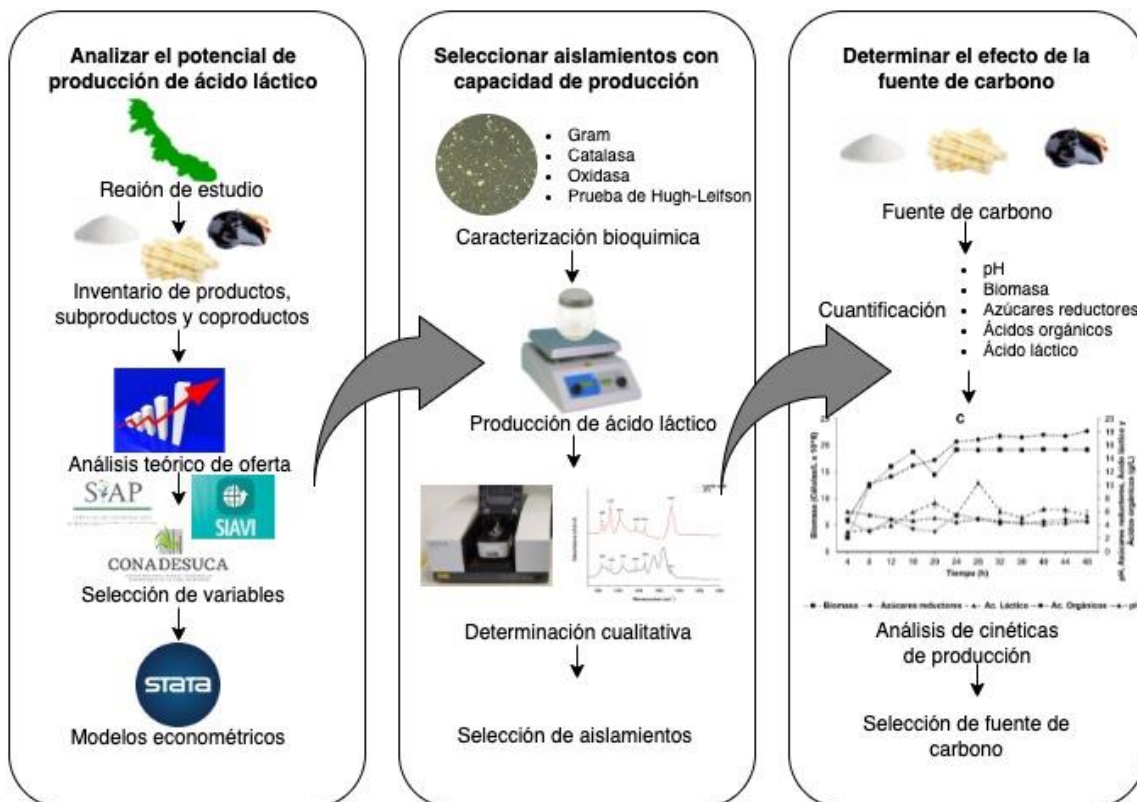


Figura 4 Estrategia experimental de producción de ácido láctico utilizando bacterias aisladas del proceso de extracción de sacarosa.

Fuente: Elaboración propia.

5.1.1 Región de estudio

El trabajo se realizó considerando cuatro regiones cañeras del estado de Veracruz que agrupa 18 ingenios azucareros; región Córdoba-Golfo: Central El Potrero, Central La Providencia, Central Motzorongo, Central Progreso, Central San Miguelito, Constancia,

San José de Abajo y San Nicolás ubicada entre los paralelos $17^{\circ} 48'/19^{\circ} 8'$ N y los meridianos $96^{\circ} 1'/97^{\circ} 2'$ O; región Papaloapan-Golfo: CIASA, Modelo, La Gloria, Mahuixtlán, San Cristóbal, San Pedro y Tres Valles ubicada entre los paralelos $17^{\circ} 42'/19^{\circ} 46'$ N y los meridianos $94^{\circ} 52'/96^{\circ} 57'$ O; región Centro: El Carmen ubicada entre los paralelos $18^{\circ} 8'/19^{\circ} 29'$ N y los Meridianos $96^{\circ} 43'/99^{\circ} 24'$ O y Región Noreste: El Higo y Pánuco ubicada entre los paralelos $21^{\circ} 31'/23^{\circ} 8'$ N y los meridianos $97^{\circ} 59'/99^{\circ} 31'$ O (Figura 5).

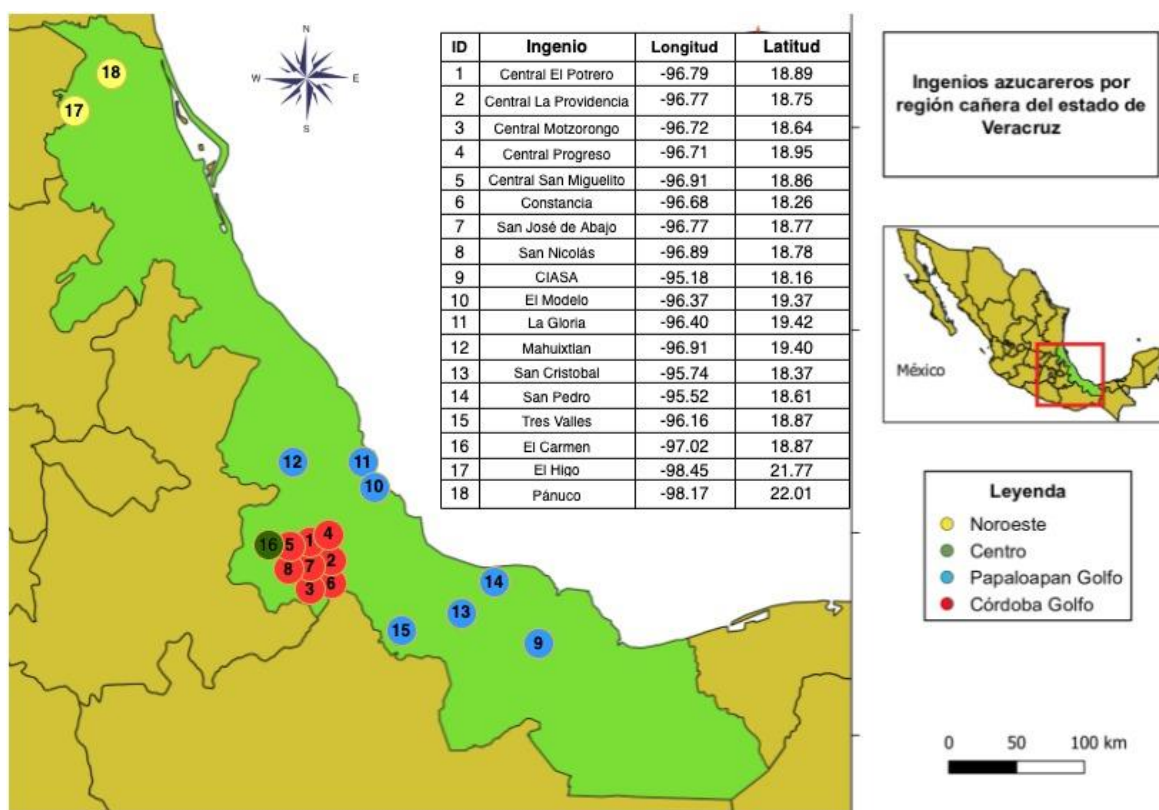


Figura 5 Ingenios azucareros por región cañera en el estado de Veracruz.

Fuente: Elaboración propia.

5.1.2 Inventario de productos, subproductos, coproductos y selección de subproductos y/o coproductos a estudiar

Se construyó una base de datos de la producción, subproductos y coproductos generados en los ingenios azucareros objeto de estudio, en el periodo que comprenden

los ciclos del 2010-2011 al 2019-2020, utilizando información oficial de acuerdo con la CONADESUCA (2021) y se seleccionó para estudiar aquellos con potencial para ser utilizados como materia prima y valorizados actualmente de acuerdo con la literatura.

5.1.3 Análisis teórico de la oferta potencial de ácido láctico.

Se elaboró una gráfica de tendencia histórica de los ciclos 2010-2011 al 2019-2020 utilizando los subproductos y/o coproductos seleccionados y para el mismo periodo se calcularon los volúmenes teóricos de ácido láctico si los subproductos y/o coproductos fueran utilizados para producirlo.

5.1.4 Selección de variables

Se seleccionaron para analizar las variables socioeconómicas y productivas de contexto (grado promedio de escolaridad de la población donde se localizan los ingenios objeto de estudio, precio real de caña, superficie cosechada y rendimiento de caña) de los municipios donde se encuentran ubicados los ingenios azucareros utilizando información oficial del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2020), y del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2020). El grado promedio de escolaridad es una variable socioeconómica de interés que se relaciona con la producción ya que de acuerdo con Licea (2019) existe una relación directa entre educación y salario, las poblaciones rurales al tener un mayor grado de escolaridad optan por desarrollar actividades no agropecuarias y migran hacia otros estados con la finalidad de aumentar el ingreso familiar, lo cual repercute en la producción de actividades agropecuarias.

Por su parte se seleccionaron variables productivas (días de zafra, número de productos, coproductos y subproductos y tendencia temporal para la agroindustria azucarera de la región de estudio de acuerdo con la CONADESUCA, (2021).

Asimismo, fue recopilada información sobre los volúmenes de exportación e importación de ácido láctico en México a través del sistema de información arancelaria vía internet (SIAVI, 2020), utilizadas para generar variables macroeconómicas tales como precio y volumen de las importaciones.

5.1.5 Construcción y selección de modelos econométricos

Utilizando el software estadístico Stata® ver 12.0. se construyeron modelos de regresión lineal simple (MRL), efectos mixtos (MEM), logístico al 10 percentil (ML10), logístico al 25 percentil (ML25) y logístico al 50 percentil (ML50), los cuales fueron utilizados para estudiar los factores que determinan la oferta potencial de ácido láctico mediante un análisis de panel de datos. Finalmente se utilizó el criterio de información Akaike (AIC) el cual refleja la conformidad del modelo con los datos observados y el criterio de información Bayesiano (BIC) en el cual el modelo probable es el que se ajusta a los datos observados para seleccionar el modelo adecuado; estos criterios son ampliamente utilizados en la comparación y selección óptima de modelos escogiendo como modelo ajustado, es decir en equilibrio la bondad de ajuste y parsimonia, el de valores mínimos de AIC y BIC (Cavanaugh y Neath, 2019).

5.2.1 Caracterización bioquímica de aislamientos bacterianos y preselección de aislamientos bacterianos

Se utilizaron 11 aislamientos bacterianos pertenecientes al laboratorio de Biotecnología Microbiana Aplicada del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba (BIOMA) las cuales fueron aisladas de diferentes etapas del proceso de extracción de sacarosa. Los aislamientos fueron conservadas en glicerol (Hycel®) al 30% v/v (refrigeración 4 °C) y 50% v/v en congelación (-20°C) (Liu *et al.*, 2003; Chauhan *et al.*, 2007).

Para la caracterización bioquímica, los aislamientos conservados en glicerol fueron reactivadas sembrándolas en placas de agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS), Difco™ compuesto por: 10 g/L de peptona proteosa No.3, 10 g/L de extracto de carne, 5 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de dextrosa, 1 g/L de polisorbato 80, 2 g/L de citrato de amonio, 5 g/L de acetato de sodio, 0.1 g/L de sulfato de magnesio, 0.05 g/L de sulfato de manganeso, 2 g/L de fosfato dibásico de potasio y 15 g/L de agar, e incubadas a 37 °C durante 48 horas (Landa-Salgado *et al.*, 2019).

Los aislamientos fueron caracterizados por tinción de Gram (Islam *et al.*, 2020). Posteriormente se realizó la prueba de catalasa que consistió en poner una gota de peróxido de hidrogeno al 3.5% (Alcomex®) en un portaobjetos y con un asa bacteriológica realizar un frotis bacteriano sobre la gota de peróxido de hidrógeno (Rahmawati *et al.*, 2021). Así mismo se realizó una prueba de oxidasa poniendo una azada de cultivo bacteriano en tiras reactivas (Bactident®) (Barragán *et al.*, 2020).

Por otra parte, se realizó una prueba de Hugh-Leifson para determinar si una bacteria tiene las enzimas necesarias para oxidar la glucosa y / o sacarosa o bien para la fermentar la glucosa y/o sacarosa. Esta prueba se realizó utilizando dos tubos de ensayo en donde se añadió 8 mL de medio de Hugh-Leifson estéril (Anexo C), se inocularon por picadura con biomasa bacteriana, a uno de los tubos se le añadió 1 mL de parafina líquida estéril para simular un ambiente anaeróbico (tubo cerrado) y el segundo tubo se inoculó permaneciendo abierto (tubo abierto) (Chauhan y Jindal, 2020).

Los aislamientos Gram positivos, catalasa negativa, oxidasa negativa y prueba de Hugh-Leifson anaerobio facultativo y/o anaerobio estricto fueron preseleccionadas para determinar su capacidad de producción de ácido láctico.

5.2.2 Producción de ácido láctico

Para la producción de ácido láctico se utilizaron frascos de geometría uniforme de 100 mL de capacidad como unidad experimental, añadiendo 70 mL de medio de cultivo que contenía (5 g/L) peptona (Hycel®), (0.5 g/L) extracto de levadura (BD Bioxon®), (4 g/L) CaCO₃ (Productos químicos monterrey®) y (20 g/L) glucosa como fuente de carbono (Meyer®) (Rojas *et al.*, 2016).

La producción del inóculo se realizó sembrando estría cruzada en caja petri los aislamientos en agar MRS, y se incubaron a 37°C por 24 h. La biomasa fue cosechada y el sistema se ajustó a una concentración celular de 1×10^6 UFC (Castilla-Marroquín *et al.*, 2020). Se inoculó el sistema de frascos de geometría uniforme y se incubó a 37 °C con una agitación de 150 r.p.m en un agitador orbital IKATM KS260 por 14 h.

Cada hora se realizó un conteo en cámara de Neubauer (Hausser scientific®) de la biomasa obtenida del sistema de producción y se ajustó al modelo de Gompertz (Ecuación 1) (Lizardi-Jiménez *et al.*, 2019). Este modelo se justifica ya que su función principal es estudiar la respuesta microbiana respecto al tiempo (crecimiento, supervivencia o inactivación de colonias) o la producción de metabolitos y describir la cinética de crecimiento en un proceso particular con la menor cantidad de parámetros posibles, además de que no toma en cuenta el consumo del sustrato (Montesdeoca-Tacoronte, 2021). El presente proyecto buscó analizar si hay una relación directa entre la tasa específica de crecimiento máximo y la producción de metabolitos, en este caso, ácido láctico.

El comportamiento bacteriano está influenciado por las condiciones ambientales, la composición del medio de cultivo y el estado fisiológico de la célula. Por lo tanto, existe

la necesidad de ajustar el modelo a fin que puedan dar cuenta de los posibles comportamientos microbianos en cada sustrato (Stavropoulou y Bezirtzoglou 2019).

$$y = ae^{-e^{(b-ct)}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde y es la densidad celular en el tiempo t y a , b , c son términos matemáticos que representan parámetros biológicos asociados como μ_{\max} (h^{-1}) que se define como la tasa específica de crecimiento máximo, λ (h) como el tiempo de adaptación o fase lag y t_i (h) como el tiempo de inflexión.

$$\mu_{\max} = ac/e \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\lambda = (b-1) / c \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$t_i = b/c \quad (\text{Ecuación 4})$$

En los últimos años la microbiología predictiva se utiliza ampliamente para predecir cambios microbianos producidos en alimentos. Además de Gompertz existen otros modelos matemáticos sigmoidales tales como el logístico, Weibull, Richards, Standard, Schnute y Brody entre otros, los cuales no toman en cuenta el consumo de sustrato. De acuerdo con Chambi-Rodríguez y Torres-Jiménez (2021); Castro *et al.*, (2008) Gompertz es la ecuación primaria más ampliamente utilizada para describir el crecimiento microbiano motivo por el cual se utilizó para ajustar el crecimiento.

5.2.3 Determinación cualitativa de ácido láctico por FT-IR y selección de aislamientos bacterianos

Se realizó un análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) de los sobrenadantes recuperados por centrifugación (15000 r.p.m por 15 min en una centrífuga marca SAVANT™ SC210A) de los aislamientos pre-seleccionados para lo cual se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo Bruker™ Vertex 70 (con una resolución de

3 cm⁻¹) utilizándolo en modo de muestreo de reflexión total atenuada (ATR), en este se utiliza un cristal de diamante con un solo reflejo. Se utilizó la región media del espectro infrarrojo de 4000-400 cm⁻¹. Los resultados fueron comparados con el espectro resultante del estándar comercial de ácido láctico (Meyer®), 85% v/v. Finalmente para el análisis de espectros se utilizó el programa Origin™ 6.1 (OriginLab Corporation, EE.UU.) y se seleccionaron los aislamientos con capacidad de producir ácido láctico (Castilla-Marroquín *et al.*, 2020).

5.3.1 Preparación de inóculo

Se sembraron cada uno de los aislamientos seleccionados por estría cruzada en caja petri con agar MRS y se incubaron a 37 °C por 24 h en un horno (felisa®), posteriormente la biomasa se cosechó y se ajustó el inóculo a una concentración celular de 1x10⁶ UFC (Castilla-Marroquín *et al.*, 2020).

5.3.2 Cultivo en medio líquido

Se utilizó como medio de cultivo 70 mL de solución que contenía (5 g/L) peptona (Hycel®), (0.5 g/L) extracto de levadura (BD Bioxon®), (4 g/L) CaCO₃ (Productos químicos Monterrey®) y como fuente de carbono se comparó (20g/L) glucosa (Meyer®), sacarosa (Fermont®) y melaza obtenida de un ingenio perteneciente a la región Córdoba-Golfo (Rojas *et al.*, 2016). Se inocularon los 70 mL de medio líquido que contenía el sistema de frasco de geometría uniforme de capacidad 100 mL y se incubó a 37 °C con una agitación de 150 r.p.m en un agitador orbital IKATM KS260 por 48 h, con toma de muestra cada 4 h para cuantificar biomasa, pH, concentración de ácidos orgánicos, concentración de ácido láctico y concentración de azúcares reductores.

5.3.3 Cuantificación de biomasa por conteo en cámara

Cada 4 h durante 48 h se realizó la cuantificación de biomasa utilizando el método de conteo en cámara de Neubauer (Hausser scientific®) (Butler, 1999).

5.3.4 Determinación de pH

Para determinar el pH del medio líquido de cultivo se utilizó un pH-metro (Hanna instruments®), introduciendo el electrodo del equipo en el medio de cultivo esperando hasta obtener una lectura constante, esta operación se realizó cada 4 h durante 48 h (Cárdenas *et al.*, 2018).

5.3.5 Determinación de ácidos orgánicos

Para la determinación de ácidos orgánicos en muestreos cada 4 h durante 48 h se utilizó el método de acidez total aplicado por Cárdenas *et al.*, (2018), por medio de una bureta de 25 mL de capacidad llena de NaOH al 0.01 N se adicionó gota a gota a un matraz Erlenmeyer que contenía 2 mL de medio de cultivo, 18 mL de agua desionizada y 3 gotas de fenolftaleína al 1 % que se utilizó como indicador. La titulación se da por terminada al virar la muestra a un color rosa tenue que sea persistente, se toma la lectura de los mL gastados de NaOH y se calcula la concentración de ácido láctico mediante la ecuación 5.

$$\text{Conc. Ácido láctico } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{V1 * C * 100}{V2 * \text{Meq}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde:

V1= mL de NaOH gastados

V2= mL de muestra

C= Concentración del NaOH

Meq= Meliequivalente del ácido láctico.

5.3.6 Determinación de azúcares reductores

Durante 48 h se realizaron muestreos cada 4 horas del medio de cultivo líquido y se determinó la concentración de azúcares reductores mediante una modificación del método utilizado por Miller (1959) utilizando una curva patrón de glucosa (Anexo A). El método consistió en añadir 1 mL de muestra a un tubo de ensaye, posteriormente se agregó 1 mL de reactivo DNS que estaba compuesto por: 16 g/L de hidróxido de sodio (Macron), 300 g/L de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado (J.T. Baker) y 10 g/L de ácido 3,5-dinitrosalisílico (Sigma-Aldrich®), por otro lado, se agregaron a un tubo 1 mL de reactivo DNS con 1 mL de agua (Tubo Blanco de comparación), se colocaron los tubos en baño maría a 100 °C por 15 minutos seguido de un enfriamiento en baño de agua con hielo durante 15 minutos, finalmente se añadieron 5 mL de agua desionizada y se tomó lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro UV visible Thermo Scientific™ GENESYS 10S a una longitud de onda de 575 nm. Mediante una curva patrón se obtiene la ecuación de la recta (Anexo A) y permitió el cálculo de la concentración de azúcares reductores.

5.3.7 Determinación espectrofotométrica de ácido láctico

Para la determinación de ácido láctico cada 4 h durante 48 h se tomó muestra del medio de cultivo fermentado y se realizó un análisis de determinación espectrofotométrico utilizando el método propuesto por Borshchevskaya (2016), consistió en realizar una curva patrón de ácido láctico con rango de detección 0.166-10.63 g/L (Anexo B), se tomaron 50 µL de cada dilución seriada preparada con ácido láctico (Meyer®) 85% v/v y se añadieron a 2 mL de FeCl₃ al 0.2% (Fermont®), esta reacción produce lactato de hierro (III) con una coloración verde amarillento, se toma lectura de la absorbancia con un

espectrofotómetro UV visible Thermo Scientific™ GENESYS 10S a una longitud de onda de 390 nm. Para la determinación de ácido láctico se toman 50 µL de la muestra a analizar y se añaden a 2 mL de FeCl₃ al 0.2%, se toma lectura de la absorbancia con un espectrofotómetro y con la ayuda de la curva patrón se calcula la concentración (g/L) de ácido láctico.

6. Resultados y discusión

Para dar cumplimiento del objetivo 1 el cual fue analizar el potencial de producción de ácido láctico como alternativa de diversificación al agregar valor a productos y/o subproductos y/o coproductos de la agroindustria azucarera mediante modelos econométricos, se tiene que:

6.1.1 Inventario de productos, subproductos y coproductos.

El inventario de productos, subproductos y coproductos de la región indicó que: el bagazo (1287.63 miles de t), cachaza (524.37 miles de t), sacarosa (469.1 miles de t), melaza (179.67 miles de t) y etanol (460.49 miles de L) son los que más se producen (CONADESUCA, 2021). El inventario de reportes del potencial de aprovechamiento de los coproductos generados en la agroindustria azucarera (Alves de Oliveira *et al.*, 2019; Anaya-Reza y López-Arenas, 2018) y la poca valorización que se les da, permitieron seleccionar el bagazo y melaza para realizar un análisis con modelos econométricos.

6.1.2 Oferta teórica de ácido láctico.

En la Figura 6 se puede observar la tendencia de generación de bagazo y melaza (ciclo productivo 2010-2011 al 2019-2020) así como también la proyección de los volúmenes de producción teóricos de ácido láctico calculados a partir de los rendimientos reportados

para estos coproductos. Los volúmenes teóricos de ácido láctico fueron calculados en miles de t en referencia a los rendimientos reportados por Alves de Oliveira *et al.*, (2019), para el ácido láctico producido a partir de bagazo y por Anaya-Reza y López-Arenas (2018) para el ácido láctico producido a partir de melaza.

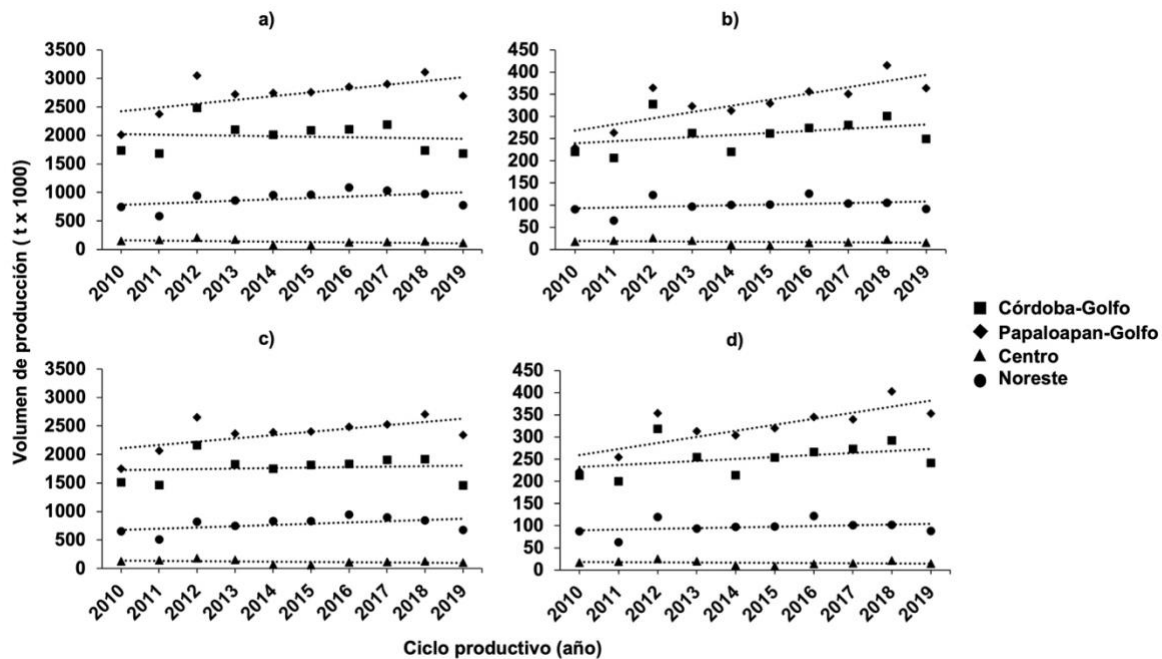


Figura 6 Potencial de producción de ácido láctico a partir de coproductos de la agroindustria azucarera de las regiones cañeras de Veracruz, ciclos 2010-2011 al 2019-2020, a) bagazo, b) melaza, c) volumen teórico de ácido láctico a partir de bagazo y d) volumen teórico de ácido láctico a partir de melaza.

Fuente: Elaboración propia con datos de CONADESUCA (2020).

Como se puede observar en la Figura 6, las regiones cañeras Papaloapan-Golfo y Córdoba-Golfo muestran un mayor potencial de producción de ácido láctico a partir de los coproductos bagazo y melaza, con una tendencia lineal que proyecta un posible aumento de los volúmenes de producción respecto al tiempo, demostrando que los ingenios que pertenecen a éstas regiones pueden considerar la diversificación mediante

una producción sustentable del ácido láctico, adicional a los productos que tradicionalmente producen.

Adicionalmente la situación de comercio internacional del ácido láctico en México enfrenta una balanza comercial deficitaria ya que las compras realizadas de este producto al extranjero superan las ventas al exterior como se aprecia en la Figura 7, lo cual abre ventana de oportunidad para la diversificación promoviendo el consumo del mercado nacional y disminuyendo la dependencia de las importaciones del extranjero.

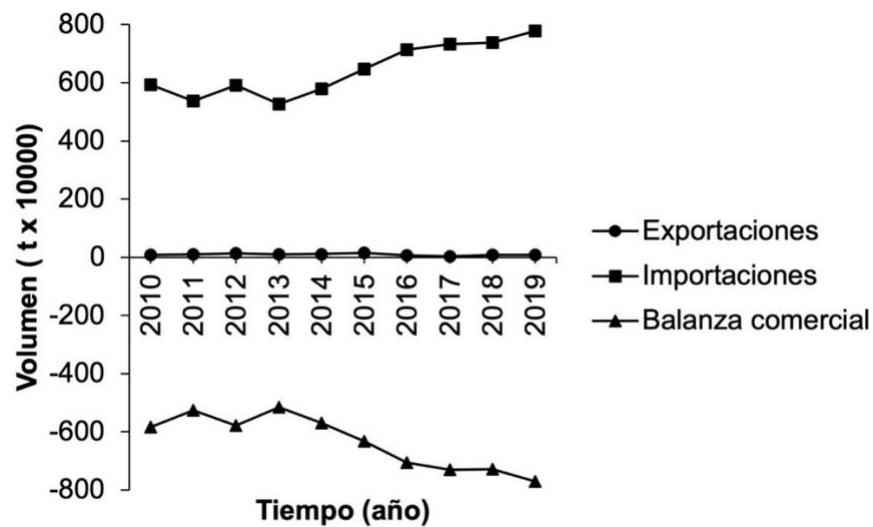


Figura 7 Histórico del comercio internacional del producto ácido láctico en México, periodo 2010-2019.

Fuente: Elaboración propia con datos de SIAVI (2020).

6.1.3 Análisis de modelos econométricos.

Por otro lado, el análisis de variables mediante modelos econométricos fue realizado con el objetivo de identificar los factores que determinan la oferta potencial de ácido láctico en Veracruz (Cuadro 2).

Cuadro 2. Modelos econométricos de factores que determinan la oferta potencial de ácido láctico en Veracruz.

| Variable | MRL | | MEM | | ML10 | | ML25 | | ML50 | |
|--|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|--------------|----------|-----------------|----------|
| | Coefficiente | P-values | Coefficiente | P-values | Coefficiente | P-values | Coefficiente | P-values | Coefficiente | P-values |
| Días de zafra (Día) | 1.004*** | P<0.01 | 1.003*** | P<0.01 | 14.83*** | P<0.01 | 70.37 | N/A | 36.12*** | P<0.01 |
| Número de coproductos y subproductos | 0.0202 | N/A | 0.0204 | N/A | 4.508** | P<0.05 | 9109 | N/A | 1655 | N/A |
| Grado promedio de escolaridad (Años) | 0.053 | N/A | 0.0531 | N/A | 0.836* | P<0.1 | 11.99 | N/A | 7.159** | P<0.05 |
| Precio medio rural de caña (Pesos mexicanos) | 0.0879 | N/A | 0.0878 | N/A | -1361 | N/A | -6132 | N/A | -4699 | N/A |
| Volumen de importaciones de ácido láctico (t x 1000000) | -0.103 | N/A | -0.103 | N/A | 4164 | N/A | -1188 | N/A | 3021 | N/A |
| Región Papaloapan (0 ó 1) | 0.345 | N/A | 0.344 | N/A | 3302 | N/A | 18.48 | N/A | 3328 | N/A |
| Superficie cosechada (ha) | 0.0182 | N/A | 0.0191 | N/A | 5.052** | P<0.05 | -3047 | N/A | 1147 | N/A |
| Precio de importaciones de ácido láctico (Pesos mexicanos) | 0.340** | p<0.05 | 0.341*** | P<0.01 | 17.82* | P<0.1 | 0 | N/A | 0 | N/A |
| Rendimiento de caña (t.ha ⁻¹) | 0.124 | N/A | 0.119 | N/A | -3561 | N/A | -15.75 | N/A | 3490 | N/A |
| Constante | -4.153** | p<0.05 | -4139 | N/A | -333.6** | P<0.05 | -345.9 | N/A | -264.9* | P<0.1 |
| Número de observaciones | 160 | | 160 | | 160 | | 160 | | 160 | |
| Criterio de información Akaike (AIC) | N/A | | -167.2 | | 88.22 | | 65.3 | | 79.45 | |
| Criterio de información Bayesiano (BIC) | N/A | | -127.2 | | 125.1 | | 99.13 | | 113.3 | |

P-values=*** P<0.01, **P<0.05, *P<0.1; MRL=Modelo de regresión lineal simple; MEM=Modelo de efectos mixtos; ML10=Modelo logístico al 10 percentil; ML25=Modelo logístico al 25 percentil; ML50=Modelo logístico al 50 percentil.

Como se observa en el Cuadro 2 siguiendo los criterios para selección del modelo que más se ajusta a los datos observados de acuerdo con (Cavanaugh y Neath, 2019), el modelo MEM es el que mejor se adecúa debido a que tiene el AIC y BIC más bajos y de acuerdo con (Rafiq y Kazmi, 2017) se define de la siguiente manera (Ecuación 6):

$$Y = X\beta + Z u + \epsilon. \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde Y es el vector de observaciones conocidas, con media $E(y) = X\beta$;

β es el vector desconocido de efectos fijos

u es el vector desconocido de efectos aleatorios, con media $E(u) = 0$ y varianza- matriz de covarianza $var(u) = G$;

ϵ es el vector desconocido de errores aleatorios, con media $E(\epsilon) = 0$ y varianza $var(\epsilon) = R$;

X y Z son matrices de diseño conocidas que relacionan las observaciones y a β y u respectivamente.

De acuerdo con (Rafiq y Kazmi, 2017) los MEM integran tanto efectos fijos como efectos aleatorios y describen la relación entre la variable respuesta y la o las variables independientes. En este tipo de modelos si un efecto principal es un efecto aleatorio, entonces cualquier interacción que involucre tal efecto principal es también un efecto aleatorio y puede incluir variables invariantes en el tiempo (es decir, género) ó en caso del presente proyecto región a la que pertenece el ingenio (Región Papaloapan). Resultados similares presentó Gilbert *et al.*, (2013), quienes utilizaron un MEM con el cual concluyeron que las exportaciones agrícolas tienen efectos mixtos sobre el crecimiento económico en Camerún.

En la presente investigación los modelos estudiados para determinar los factores que definen la oferta potencial de ácido láctico en Veracruz, México muestran que, el factor *Días de zafra* es estadísticamente significativo al 1% en el modelo más ajustado MEM así como también en los modelos MRL, ML10 y ML50 lo cual indica que a mayor número de días de zafra los ingenios tienen mayor probabilidad de producir ácido láctico. Esto debido a que la disponibilidad de caña bruta y de subproductos (bagazo y melaza) que se derivan del proceso industrial es mayor conforme aumentan los días de zafra. Por otro lado, el factor *Precio de importaciones de ácido láctico* en México resultó ser estadísticamente significativo en los modelos MRL, MEM y ML10 al 5%, 1% y 10% respectivamente. Esto sugiere que a medida que incrementa el precio de importación del ácido láctico en México aumenta la probabilidad de producir ácido láctico a nivel nacional, con lo cual se podría reducir los volúmenes de importaciones de dicho coproducto. En estudios realizados por (Benítez-Ramírez *et al.*, 2010), encontraron resultados similares para identificar las principales determinantes de la oferta y demanda de carne bovina en canal en México, en los resultados del análisis de su modelo predictivo encontraron que a medida que el precio de importación de la carne deshuesada disminuye, se reduce la oferta nacional.

De la misma manera (Rebollar-Rebollar *et al.*, 2019), en su estudio para determinar la magnitud del efecto de las importaciones sobre las principales variables económicas y tecnológicas en la oferta de carne se encontraron resultados similares concluyendo que a mayor precio de importación se incrementó el volumen de carne de pollo en México. Adicionalmente, los factores *Número de coproductos y subproductos*, *superficie cosechada* y *Grado promedio de escolaridad*, resultaron ser estadísticamente

significativos en el ML10 al 5%, 5% y 10% respectivamente. Lo que sugiere que a mayor número de coproductos y subproductos producidos en un ingenio aumenta la probabilidad de diversificar su producción al ofertar el coproducto ácido láctico, asimismo, a mayor superficie cosechada en el ingenio azucarero aumenta la probabilidad de producir ácido láctico debido a la disponibilidad de caña de azúcar.

Finalmente a mayor grado promedio de escolaridad aumenta la probabilidad de producción del coproducto ácido láctico.

Resultados similares presentó Aguilar-Rivera, (2017b), y demostró que la región cañera Huasteca tiene un índice de diversificación promedio de 99.78 % de medio a alto y muy alto, lo que indica un alto potencial para la diversificación debido a la interacción de factores ambientales como lo es la superficie cosechada, tecnológicos y socioeconómicos como el grado de escolaridad.

En la Figura 8 se puede observar a manera de resumen lo obtenido en el objetivo 1.

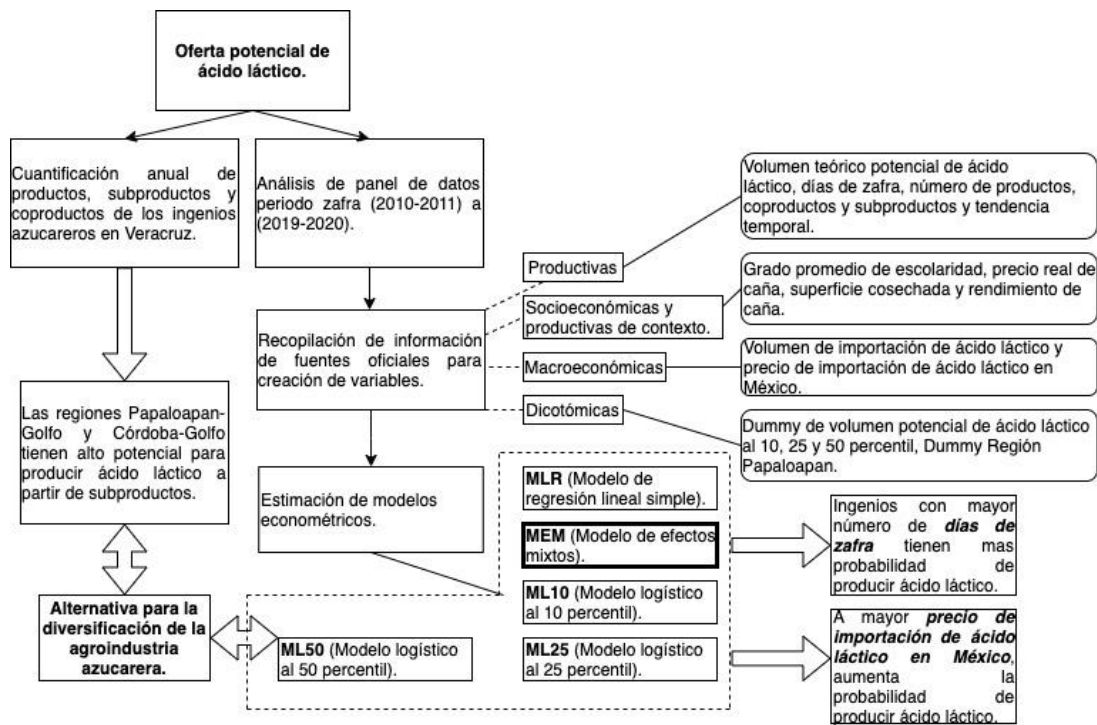


Figura 8 Oferta potencial de ácido láctico como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera en Veracruz, México.

Fuente: Elaboración propia con datos de la investigación.

Para dar cumplimiento al objetivo 2 que fue seleccionar aislamientos de bacterias con capacidad de producción de ácido láctico, se caracterizaron bioquímicamente 11 aislamientos y se determinó la capacidad de producción de ácido láctico mediante un análisis FTIR tal como se presenta a continuación.

6.2.1 Caracterización bioquímica de aislamientos bacterianos y preselección de aislamientos bacterianos

Los resultados de la caracterización morfológica que se muestran en el Cuadro 3 indican que los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3 presentan características similares a las bacterias ácido lácticas ya que de acuerdo con lo reportado por Islam *et al.*, (2020); Rahmawati *et al.*, (2021) y Barragán *et al.*, (2020) este grupo de bacterias son Gram

positivas, catalasa negativas, además de que carecen de la enzima citocromo oxidasa (oxidasa negativas). Asimismo, los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3 mostraron un metabolismo anaerobio facultativo de acuerdo a la prueba de Hugh-Leison, dichos resultados concuerdan con lo reportado por Chauhan y Jindal, (2020) quienes indicaron que las bacterias ácido lácticas pueden ser anaerobias facultativas o anaerobias estrictas.

Cuadro 3 Caracterización bioquímica de los aislamientos obtenidos del proceso de extracción de sacarosa

| Aislamiento | Origen | Gram | Forma | Catalasa | Oxidasa | HF-G | HF-S |
|--------------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|----------------|-------------|-------------|
| JF2 | Jugo filtrado | (+) | Bacilo | (-) | (-) | AF | AF |
| ML1 | Meladura | (+) | Bacilo | (-) | (-) | AF | AE |
| MA1 | Miel A | (+) | Bacilo | (+) | (-) | AF | AE |
| ML2 | Meladura | (+) | Bacilo | (-) | (-) | AF | AF |
| JM1 | Jugo mezclado | (-) | Coco | (+) | (-) | AF | AF |
| JF3 | Jugo filtrado | (+) | Coco | (-) | (-) | AF | AF |
| JA1 | Jugo alcalizado | (-) | Coco | (-) | (-) | AF | AF |

| | | | | | | | |
|------------|---------------------|-----|------|-----|-----|----|----|
| JF1 | Jugo filtrado | (+) | Coco | (-) | (+) | AF | AF |
| JF4 | Jugo filtrado | (-) | Coco | (-) | (+) | AF | AF |
| TA1 | Templa de A | (+) | Coco | (+) | (-) | AF | AF |
| JC1 | Jugo clarificado | (+) | Coco | (-) | (+) | O | AE |

AF= Anaerobio Facultativo, AE= Anaerobio Estricto, O= Oxidativo, HF-G= Prueba de Hugh-Leifson Glucosa, HF-S=Prueba de Hugh-Leifson Sacarosa

Los aislamientos bacterianos JF2, ML1, ML2 y JF3 cumplen con las características de ser bacterias ácido lácticas por lo que fueron preseleccionadas para determinar su capacidad de producción de ácido láctico.

6.2.2 Ajuste al modelo de Gompertz

En el ajuste al modelo de Gompertz los parámetros cinéticos calculados mostraron que el aislamiento JF2 cuenta con la tasa específica de crecimiento máximo (μ_{max}) más alta 3.0018 h^{-1} tal como se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4 Parámetros de cinéticos de los aislamientos JF2, ML1, ML2 y JF3.

| Aislamiento bacteriano | Parámetro estimado | | |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------|
| | RMAL(g.L ⁻¹) | μ_{max} (h ⁻¹) | R ² |
| JF2 | 2.5 | 3.0018 | 0.9813 |
| ML1 | 1.45 | 0.9785 | 0.9521 |

| | | | |
|------------|------|--------|--------|
| ML2 | 3.46 | 2.5494 | 0.9808 |
| JF3 | 3.43 | 2.6303 | 0.9646 |

RMAL= Rendimiento máximo de ácido láctico.

El ajuste al modelo de Gompertz indica que no existe relación directa entre la tasa específica de crecimiento máximo (μ_{\max}) (Cuadro 4) y el rendimiento máximo de ácido láctico (RMAL), su correlación no es significativa estadísticamente, posiblemente porque el ácido láctico es un producto extracelular del metabolismo de las bacterias y en condiciones anaeróbicas se favorece principalmente a la producción de metabolitos seguido de biomasa, de acuerdo a lo reportado por Von Wright y Axelsson *et al.*, (2012) en condiciones anaeróbicas y limitación de sustrato, las bacterias ácido lácticas pueden utilizar rutas metabólicas alternativas que generan diferentes productos como acetato, formato, etanol y 2,3-butanodiol a partir de piruvato.

Resultados similares reporta Stavropolou (2019) donde el comportamiento de las bacterias y la producción de metabolitos se ve afectado por las condiciones ambientales, composición del medio de cultivo y por el estado fisiológico de las células.

6.2.3 Determinación de la capacidad de producción de ácido láctico

El análisis FT-IR muestra que el espectro del producto del metabolismo del aislamiento JF2 presenta la banda C=O en (1717 cm^{-1}) y para ML1, ML2 y JF3 en (1716 cm^{-1}), la banda OH en (1454 cm^{-1}) para JF2, ML1, ML2 y JF3, asimismo la banda C-O en (1244 cm^{-1}) para los aislamientos JF2 y ML1, en (1242 cm^{-1}) para ML2 y en (1240 cm^{-1}) para JF3 por lo que el producto es ácido láctico, resultados similares presentó Păucean *et al.*, (2017); Medina *et al.*, (2014) y Garcés y Vargas (2017) los cuales indican que las bandas C=O ($1730\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$), OH ($1440\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$) y C-O ($1320\text{-}1210\text{ cm}^{-1}$) son características de los ácidos carboxílicos en los cuales se incluye al ácido láctico (Figura 9).

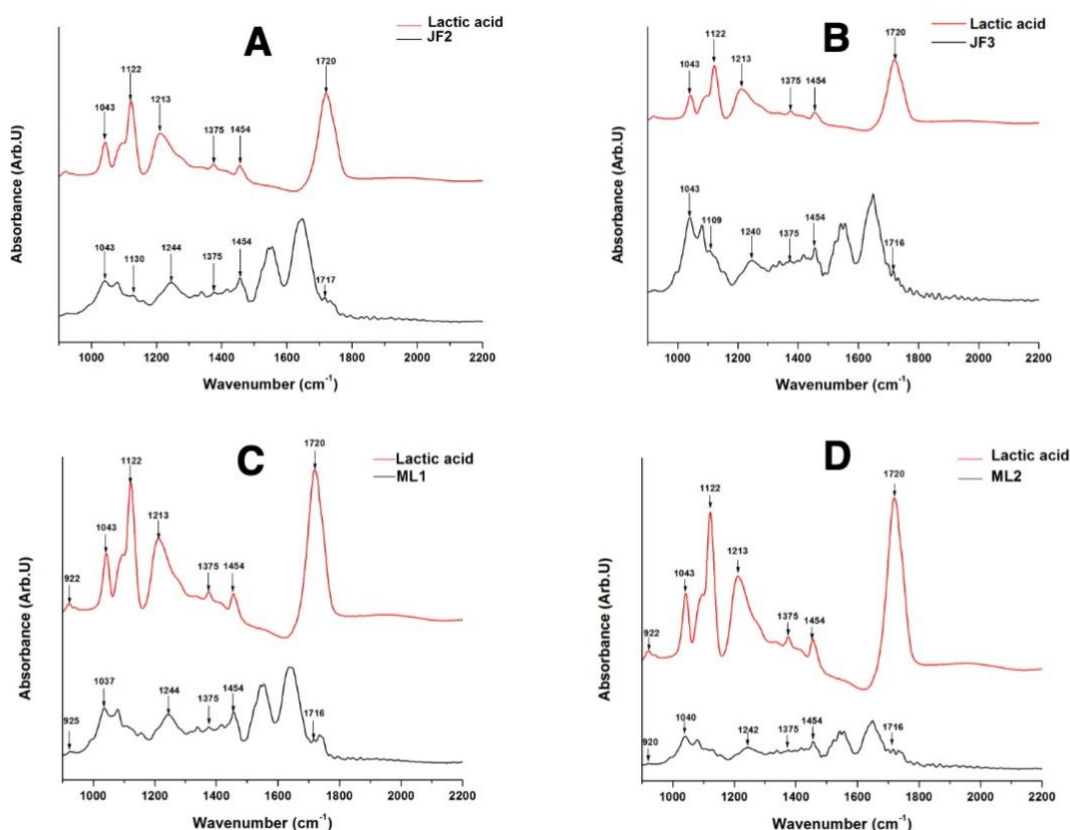


Figura 9 Espectros FT-IR de ácido láctico, A) Aislamiento JF2, B) Aislamiento JF3, C) Aislamiento ML1, D) Aislamiento ML2.

De acuerdo a los resultados anteriores se seleccionaron los aislamientos JF2, JF3, ML1 y ML2 como productores de ácido láctico, y se determinó el efecto de la fuente de carbono sobre los rendimientos de ácido láctico lo cual se discutirá en la siguiente sección.

Para contribuir con el objetivo 3 que fue determinar el efecto de la fuente de carbono sobre los rendimientos de ácido láctico, se comparó el efecto de la fuente de carbono sobre la producción de ácido láctico, tal como se presenta a continuación.

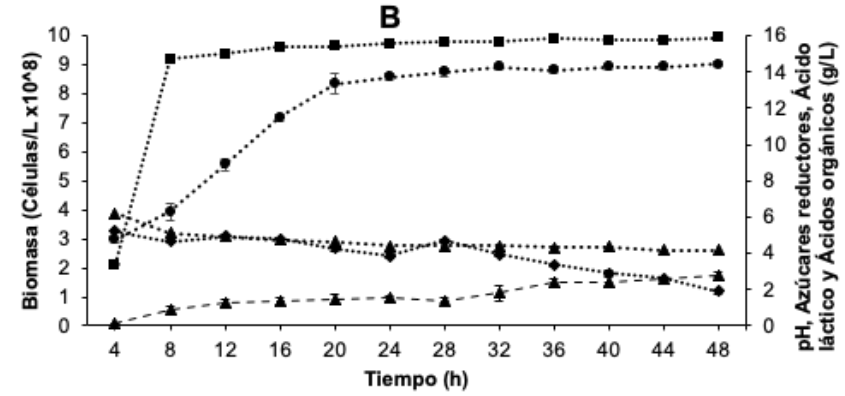
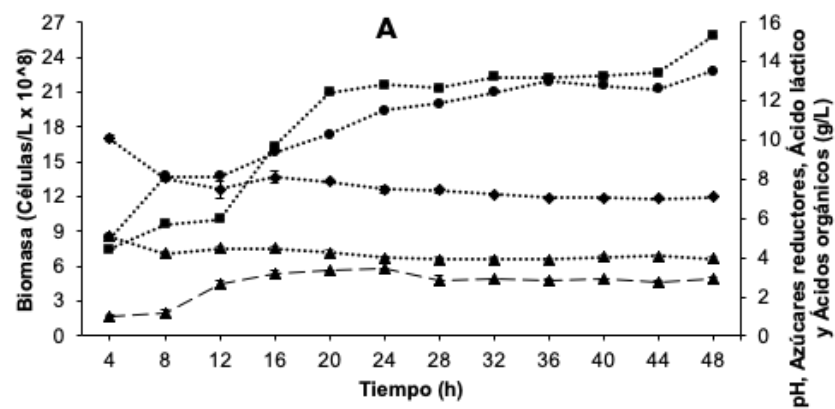
6.3.1 Efecto de la fuente de carbono sobre los rendimientos de ácido láctico

Al evaluar el efecto de la fuente de carbono (glucosa, sacarosa y melaza) sobre la producción de ácido láctico se evidenció cuando se utilizó melaza como fuente de

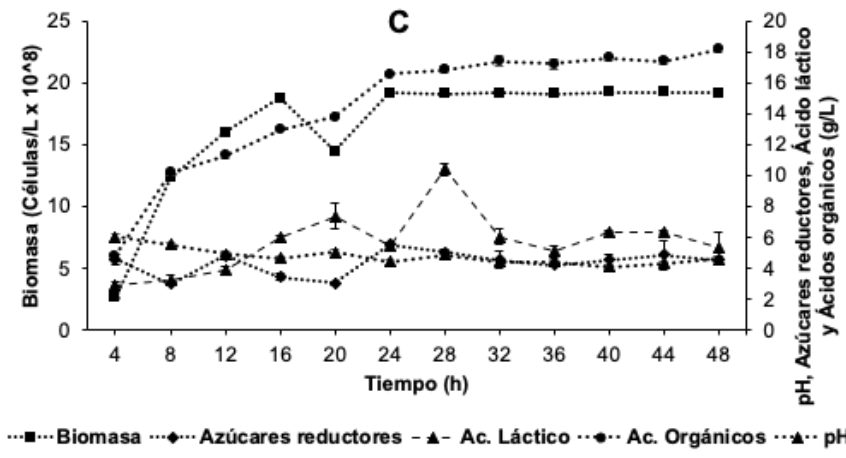
carbono, los aislamientos JF3 (10.40 g.L⁻¹), ML2 (6.82 g.L⁻¹), JF2 (6.39 g.L⁻¹) y ML1(4.5 g.L⁻¹) aumentaron la producción de ácido láctico, asimismo, el aislamiento JF3 fue el que mostró mayores rendimientos (10.40 g/L) a las 28 h (Figura 10, C) posiblemente debido a que los aislamientos fueron del proceso de extracción de sacarosa y existe una adaptación a la fuente de carbono a diferencia de las otras fuentes de carbono utilizadas(glucosa y sacarosa) que son de origen comercial.

Por otro lado, el efecto de la fuente de carbono es un factor que se ha reportado como relevante, de acuerdo a Castro *et al.*, (2018) en su estudio del efecto de la fuente de carbono se observó que existen tasas de crecimiento y producción de ácido láctico significativamente diferentes en los tratamientos estudiados (glucosa, sacarosa y melaza), la tasa de crecimiento microbiano en el medio que contenía glucosa fue menor por lo que la fuente de carbono fue un factor importante.

La investigación científica ha estudiado diferentes fuentes de carbono para la producción de ácido láctico: Zhou *et al.*, (2013) reportan altos rendimientos de ácido láctico (210 g.L⁻¹) utilizando glucosa; De Oliveira *et al.*, (2021) reporta rendimientos de 175.84 g.L⁻¹ utilizando sacarosa, pero la tendencia actual enfoca su atención al aprovechamiento de residuos agroalimentarios (Alvarado-Morales *et al.*, 2021; Abdel-Rahman *et al.*, 2021b; Gali *et al.*, 2021 y Ngouénam *et al.*, 2021). El resultado indicó que la melaza es la fuente de carbono que genera mayores rendimientos de ácido láctico, motivo por el cual existe potencial para el aprovechamiento de este coproducto en la agroindustria.



---■---Biomasa ---◆---Azúcares reductores ---▲--- Ac. Láctico ---●--- Ac. Orgánicos ---▲--- pH
 ---■---Biomasa ---◆---Azúcares reductores ---▲--- Ac. Láctico ---●--- Ac. Orgánicos ---▲--- pH



---■---Biomasa ---◆---Azúcares reductores ---▲--- Ac. Láctico ---●--- Ac. Orgánicos ---▲--- pH

Figura 10 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento JF3, A)Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza.

Como se puede observar en la Figura 10,A; 11,A; 12,A y 13,A existe una relación inversa entre los azúcares reductores y la biomasa, ácido láctico y ácidos orgánicos esto debido a que a las bacterias metabolizan los azúcares reductores (glucosa) para producir biomasa y metabolitos. Por su parte cuando el metabolismo de las bacterias utiliza sacarosa o melaza como fuente de carbono (Figura 10,B,C; 11,B,C; 12,B,C y 13,B,C) se observa un incremento de los azúcares reductores seguido de una disminución ya que el metabolismo de las bacterias primero hidroliza la sacarosa produciendo hexosas metabolizables (glucosa y fructosa) para posteriormente ser asimilados. De acuerdo con Felis y Dellaglio, (2015) las bacterias ácido lácticas homofermentativas son capaces de fermentar hexosas para la producción exclusiva de ácido láctico siguiendo la ruta Embden- Meyerhof- Parnas (EMP) también llamada glucólisis, mientras que las pentosas y el gluconato no puede ser fermentado debido a la deficiencia de fosfocetolasas. Por otra parte, las bacterias ácido lácticas heterofermentativas degradan hexosas por la vía del fosfogluconato y producen lactato, etanol o ácido acético y dióxido de carbono; la mayoría de las pentosas se fermentan por esta ruta.

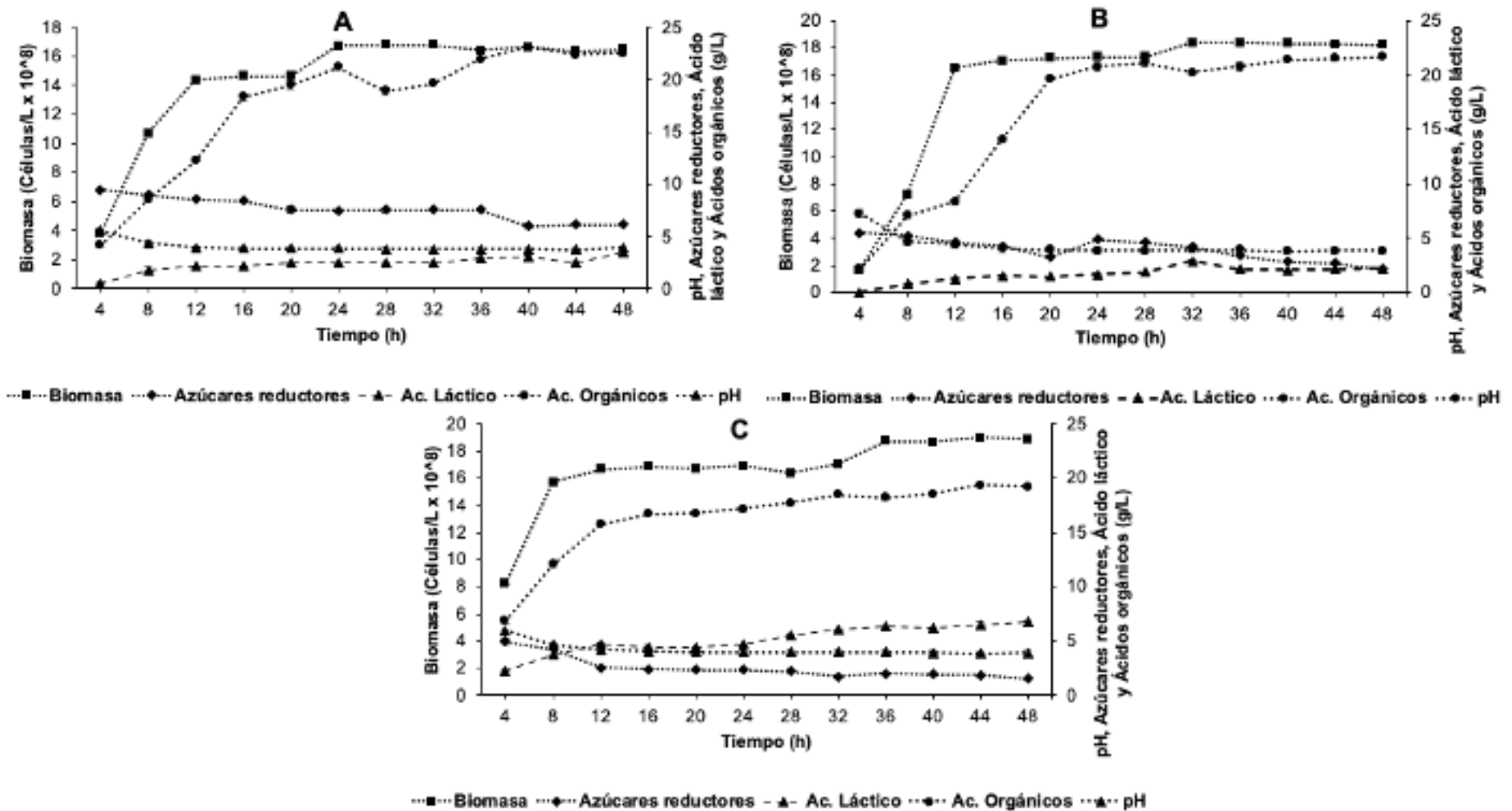


Figura 11 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento ML2, A)Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza.

Por otro lado existe una relación inversa entre el pH y la producción de ácido láctico y ácidos orgánicos (Figuras 10, 11, 12 y 13), a medida que incrementa la concentración de ácidos disminuye el pH. Como se observa en la Figura 11,C el aislamiento ML2 al inicio de la fermentación presenta un pH de 5.96 disminuyendo a 3.93 debido a la producción de ácidos. Los resultados coinciden de acuerdo a lo reportado por Cárdenas *et al.*, (2018) quienes al evaluar a la melaza como medio de cultivo para la producción de ácido láctico observaron una disminución del pH (5.33 a 3.89), esto debido a la acción metabólica de las bacterias ácido lácticas y la producción de ácido láctico.

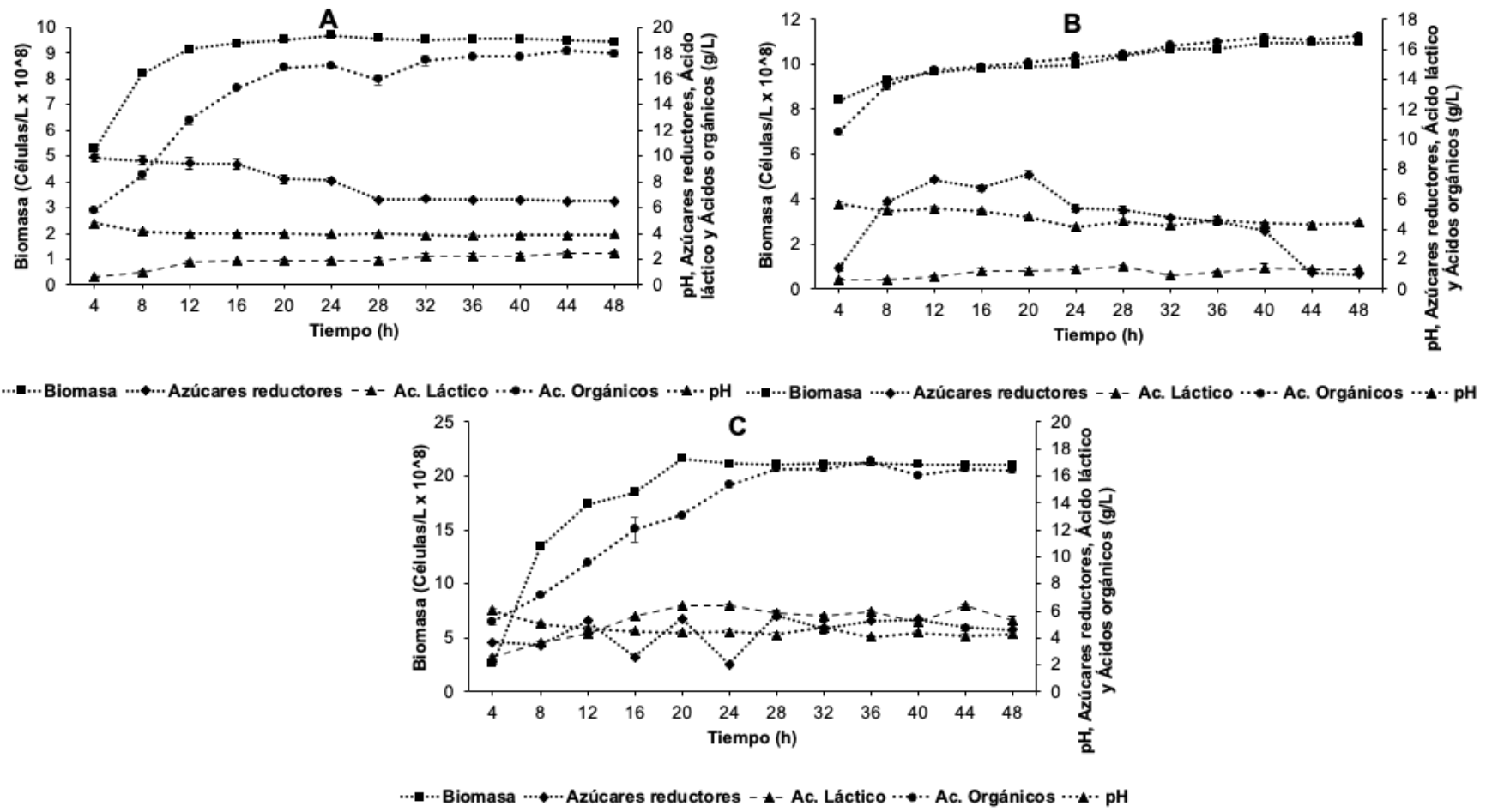


Figura 12 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento JF2, A) Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza.

Por otra parte el resultado de la producción de ácido láctico (método espectrofotométrico) y de ácidos orgánicos (método de acidez titulable) (Figura 10, 11, 12 y 13) muestran que existe diferencia en la producción de ácido láctico y ácidos orgánicos lo que infiere que posiblemente los aislamientos JF3, ML2, JF2 y ML1 tengan metabolismo heterofermentativo. De acuerdo a lo reportado por Castillo-Martínez *et al.*, (2013) las bacterias homofermentativas producen ácido láctico como principal compuesto, mientras que, las bacterias heterofermentativas producen un mayor número de compuestos aparte del ácido láctico, incluyendo ácido acético, etanol y CO₂.

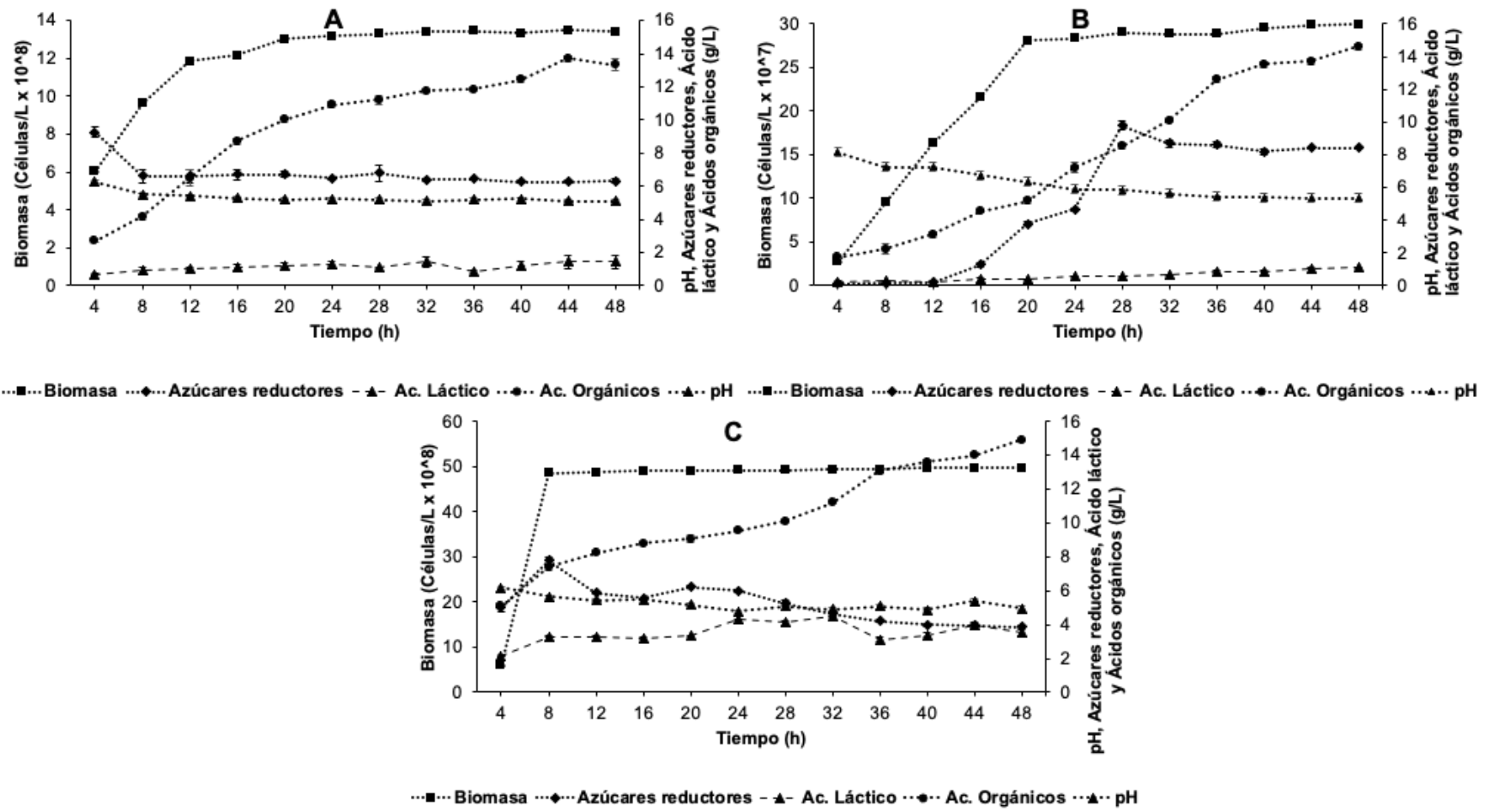


Figura 13 Cinética de producción de ácido láctico, biomasa, azúcares reductores, ácidos orgánicos y pH aislamiento ML1, A) Fuente de carbono glucosa, B) Fuente de carbono sacarosa, C) Fuente de carbono melaza.

Los resultados obtenidos por el aislamiento JF3 con mayores rendimientos de ácido láctico (Figura 10,C) utilizando melaza se encuentran por debajo a lo reportado por Abdel-Rahman *et al.*, (2021b) los cuales utilizando melaza como fuente de carbono estudiaron diferentes estrategias de fermentación para mejorar la producción de ácido láctico obteniendo 36.79 g/L utilizando *Enterococcus hirae* ds10 a las 36 h. Por su parte Vidra *et al.*, (2017) utilizando melaza en fermentaciones discontinuas con *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus sp. MKT878* obtuvieron 83 g/L de ácido láctico. Por su parte, Sun *et al.*, (2019) para la fermentación de melaza utilizaron un consorcio de microorganismos de un aislamiento de origen animal obteniendo 112.34 g/L de ácido láctico. Debido a lo anterior como consideraciones a futuro se hace notoria la necesidad de optimizar el proceso para mejorar los rendimientos de producción de ácido láctico del aislamiento JF3.

7. Conclusión

El uso de bacterias ácido lácticas permitió el diseño de un proceso de producción de ácido láctico como alternativa de diversificación de la agroindustria azucarera. Los modelos econométricos utilizados para el análisis del potencial de producción de ácido láctico de la agroindustria azucarera en Veracruz demostraron que las cuatro regiones analizadas tienen potencial para la diversificación destacando las regiones Papaloapan-Golfo y Córdoba-Golfo. Asimismo, se identificó al bagazo y melaza como los coproductos más adecuados para la producción del ácido láctico y con ello iniciar una diversificación productiva mediante la valorización de coproductos. Se demostró que de los 11 aislamientos bacterianos utilizados, 4 (JF2, ML1, ML2 y JF3) presentaron potencial para la producción de ácido láctico, siendo el aislamiento JF3 el que presenta una mayor

producción (10.40 g.L⁻¹), también se demostró que hay un efecto de la fuente de carbono sobre la producción de ácido láctico, siendo la melaza la que dio mejores rendimientos lo cual muestra el potencial que tiene la melaza para ser utilizada en una posible diversificación productiva.

8. Referencias bibliográficas

- Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E. D., Fouda, A., Radwan, A. A., Barghoth, M. G., y Desouky, S. G. (2021a). Evaluating the effect of lignocellulose-derived microbial inhibitors on the growth and lactic acid production by *Bacillus coagulans* Azu-10. *Fermentation*, 7(1), 17. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010017>
- Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E. D., Alrefaey, H. M., El-Belely, E. F., Elsakhawy, T., Fouda, A., y Khattab, S. M. (2021b). Subsequent improvement of lactic acid production from beet molasses by *Enterococcus hirae* ds10 using different fermentation strategies. *Bioresource Technology Reports*, 13, 100617. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100617>
- Aguilar-Rivera, N. (2017a). Cadena de valor de la diversificación de la agroindustria de la caña de azúcar en México. *Agroproductividad*, 10(11), 21–28. <https://cutt.ly/mTYB1xp>
- Aguilar-Rivera, N. (2017b). Estrategias metodológicas para el análisis de la reconversión y diversificación productiva de regiones cañeras. *Cuadernos Geográficos* 56, 172-192. <https://cutt.ly/nTYNOYB>
- Aguilar-Rivera, N., Debernadi-Vazquez, T. J., y Herrera-Paz, H. D. (2017). Byproducts, Coproducts and Derivatives of the sugar agroindustry. *Agroproductividad* 10, 13–20. <https://cutt.ly/0TYMyGE>

- Ahmad, A., Banat, F., y Taher, H. (2020). A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials- Recent developments and challenges. *Environmental Technology y Innovation*, 101138. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101138>
- Albarelli, J.Q., Santos, D.T., Ensinas, A.V., Marechal, F., Cocero, M.J., Meireles, M.A. (2018). Product diversification in the sugarcane biorefinery through algae growth and supercritical CO₂ extraction: Thermal and economic analysis. *Renewable Energy* 129 (2018) 776-785. <https://cutt.ly/PTY1sez>
- Alvarado-Morales, M., Kuglarz, M., Tsapekos, P., Angelidaki, I. (2021). Municipal biopulp as substrate for lactic acid production focusing on downstream processing. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2021) 105136. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105136>.
- Alves de Oliveira, R., Komesu, A., y Vas Rossell, C. E. (2018). Challenges and opportunities in lactic acid bioprocess design-From economic to production aspects. *Biochemical Engineering Journal*, 219-239. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.03.003>
- Alves de Oliveira, R., Schneider, R., Vaz Rossell, C. E., Maciel Filho, R., y Venus, J. (2019). Polymer grade L-lactic acid production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate using *Bacillus coagulans*. *Bioresource Technology Reports*, 6, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.02.003>
- Ahmad, A., Banat, F., y Taher, H. (2021). Comparative study of lactic acid production from date pulp waste by batch and cyclic–mode dark fermentation. *Waste Management*, 120, 585-593. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.10.029>

- Ameen, S. M., y Caruso, G. (2017). Lactic Acid in the Food Industry. Palermo, Italy: SpringerBriefs in Molecular Science. DOI 10.1007/978-3-319-58146-0
- Anaya-Reza, O., y López-Arenas, T. (2018). Design of a sustainable biorefinery for the production of lactic acid from sugarcane molasses. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 17(1), 243–259. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2018v17n1/Anaya>
- Ávila-Foucat, V. (2017). Desafíos del sector primario y políticas públicas sustentables. *Economía Informa*, 402, 29-39. <https://doi.org/10.1016/j.ecin.2017.01.003>
- Barragán, P. J., Sánchez, Ó. J., y Henao-Rojas, J. C. (2020). Evaluation of the Growth Kinetics of *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014 on a Medium Based on Hydrolyzed Bovine Blood Plasma at Laboratory and Bench-Scale Levels and Its Application as a Starter Culture in a Meat Product. *Fermentation*, 6(2), 45. <https://doi.org/10.3390/fermentation6020045>
- Bell, G. (2017). Second-Generation Biorefineries: Optimization, Opportunities, and Implications for Australia. *Mary Ann Liebert, Inc. Vol. 13 No. 2*. <https://doi.org/10.1089/ind.2016.29062.gbe>
- Benítez-Ramírez, J. G., García-Mata, R., Mora-Flores, J. S., y García-Salazar, J. A. (2010). Determinación de los factores que afectan el mercado de carne bovina en México. *Agrociencia*, 44(1), 109–119. <https://cutt.ly/9TY2bDM>
- Borshchevskaya, L. N., Gordeeva, T. L., Kalinina, A. N., y Sineokii, S. P. (2016). Spectrophotometric determination of lactic acid. *Journal of analytical chemistry*, 71(8), 755-758. <https://doi.org/10.1134/S1061934816080037>

- Butler, M. (1999). Cell counting and viability measurements. In *Animal cell biotechnology* (pp. 131-144). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-547-6:131>
- Cárdenas, L. M., Gómez, J. A., Arenas, M., y Serna-Jiménez, J. (2018). Evaluación de melaza como medio de cultivo para la producción de bacterias ácido-lácticas. *UGCiencia*, 24(1), 17-22. <https://doi.org/10.18634/ugcj.24v.1i.919>
- Cardoso, T. F., Watanabe, M. D., Souza, A., Chagas, M. F., Cavalett, O., Morais, E. R., ... y Bonomi, A. (2018). Economic, environmental, and social impacts of different sugarcane production systems. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(1), 68-82. <https://doi.org/10.1002/bbb.1829>
- Castilla-Marroquín, J. D., Hernández-Martínez, R., de la Vequia, H. D., Ríos-Corripio, M. A., Hernández-Rosas, J., López, M. R., y Hernández-Rosas, F. (2020). Dextran synthesis by native sugarcane microorganisms. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(Sup. 1), 177-185. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio1793>
- Castillo-Martínez, F. A., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., Dominguez-Gonzalez, J. M., Converti, A., y Pinheiro de Souza Oliveira, R. (2013). Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science y Technology*, 70-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.007>
- Castro, G., Valbuena, E., Sánchez, E., Briñez, W., Vera, H., y Leal, M. (2008). Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVIII, Nº 5, 582 - 588, 2008.* <https://cutt.ly/9ObDQMj>

- Castro, R., Guerrero-Legarreta, I., y Bórquez, R. (2018). Chitin extraction from *Allopetrolisthes punctatus* crab using lactic fermentation. *Biotechnology Reports*, 20, e00287. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00287>
- Cavanaugh, J. E., y Neath, A. A. (2019). The Akaike information criterion: Background, derivation, properties, application, interpretation, and refinements. *WIREs Comput Stat*. 2019; e1460. <https://doi.org/10.1002/wics.1460>
- Chambi-Rodríguez, A. D., y Torres-Jiménez, A. M. (2021). Modelos cinéticos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Saccharomyces boulardii*. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(1), 47-54. <https://doi.org/10.18271/ria.2021.213>
- Chauhan, A., y Jindal, T. (2020). Biochemical and Molecular Methods for Bacterial Identification. In *Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis* (pp. 425-468). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-52024-3_10
- Chauhan, K., Trivedi, U., y Patel, K. C. (2007). Statistical screening of medium components by Plackett–Burman design for lactic acid production by *Lactobacillus* sp. KCP01 using date juice. *Bioresource Technology*, 98(1), 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.017>
- Cheng, Q., Tao, J., Li, Y., Li, W., Li, D., Liu, Y., y Ren, X. (2021). Production of nisin and lactic acid from the starch of sweet potato by simultaneous saccharification and fermentation with two stage pH adjustment. *3 Biotech*, 11(7), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02778-9>
- CONADESUCA. (2021). Información de Campo y Fábrica. <https://cutt.ly/ITY27Wr>

- Costa, S., Summa, D., Semeraro, B., Zappaterra, F., Rugiero, I., y Tamburini, E. (2021). Fermentation as a Strategy for Bio-Transforming Waste into Resources: Lactic Acid Production from Agri-Food Residues. *Fermentation*, 7(1), 3. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010003>
- Cubas-Cano, E., González-Fernández, C., Ballesteros, M., y Tomás-Pejó, E. (2018). Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(2), 290–303. <https://doi.org/10.1002/bbb.1852>
- Deogharia, P.C. (2020). Diversification of agriculture and growth performance of major crops in India. *Jharkhand Journal of Development and Management Studies XISS, Ranchi*, Vol. 18, No.1 y 2, Jan.-June 2020, pp. 8379-8393. <https://cutt.ly/RObM8Pk>
- De Oliveira, P. M., Santos, L. P., Coelho, L. F., Avila Neto, P. M., Sass, D. C., y Contiero, J. (2021). Production of L (+) Lactic Acid by *Lactobacillus casei* Ke11: Fed Batch Fermentation Strategies. *Fermentation*, 7(3), 151. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030151>
- Eş, I., Mousavi Khaneghah, A., Barba, F. J., Saraiva, J. A., Sant'Ana, A. S., y Hashemi, S. M. B. (2018). Recent advancements in lactic acid production - a review. *Food Research International*, 107, 763–770.pdf. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.001>
- Felis, G., y Dellaglio, F. (2015). Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Probiotics and prebiotics: scientific aspects*, 25-49. <https://cutt.ly/QOb2Ump>
- Fuess, L.T., Zaiat, M., Oller do Nascimentoa, C.A. (2020). Molasses vs. juice: Maximizing biohydrogen production in sugarcane T biorefineries to diversify renewable energy

- generation. *Journal of Water Process Engineering* 37 (2020) 101534.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101534>
- Gali, K. K., Murugesan, M., Tadi, S. R. R., Mohan, N., Swaminathan, N., Katiyar, V., y Sivaprakasam, S. (2021). Bioprospecting of cassava fibrous waste as a precursor for stereospecific lactic acid production: inhibition insights for value addition and sustainable utilization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-11.
<https://doi.org/10.1007/s13399-020-01272-1>
- Garcés, L. V. C., y Vargas, J. C. E. (2017). Síntesis de ácido poliláctico proveniente del suero de quesería a nivel laboratorio. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 18(4), 193-214. <https://cutt.ly/WOb9pH5>
- Gilbert, N.A., Linyong, S.G., Divine, G.M. (2013). Impact of agricultural export on economic growth in Cameroon: case of banana, coffee and cocoa. *International Journal of Business and Management. Review* Vol. 1, No.1, March 2013, pp.44-71. <https://cutt.ly/KTY8Dp9>
- Gläzle, M.G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science* 2015, 2:106–117. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
- Gonçalves, F., Perna, R., Lopes, E., Maciel, R., Tovar, L., Lopez, M. (2021). Strategies to improve the environmental efficiency and the profitability of sugarcane mills. *Biomass and Bioenergy* 148 (2021) 106052.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106052>
- Greenpeace, (2019). Estudio sobre el impacto de la contaminación por microplásticos en peces de México. <https://cutt.ly/mTY4xQr>

- Guaque, Pilar y Gómez, Sandra. (2019). Ácido láctico: una revisión sobre los métodos de determinación y purificación. *Biociencias*. 14. 149-175. <https://cutt.ly/MOb9Svu>
- Gutiérrez-Villanueva, A.R., Guirola-Céspedes, C., De Armas-Martínez, A.C., Albernas-Carvajal, Y., Villanueva-Ramos, G. (2020). Valorización de la lignina en el concepto de biorrefinería (I). *Centro Azúcar*, 47(3), 95-105. <https://cutt.ly/KOb3h6M>
- Islam, R., Hossain, M. N., Alam, M. K., Uddin, M. E., Rony, M. H., Imran, M. A. S., y Alam, M. F. (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(2), 49-59. <https://doi.org/10.4236/abb.2020.112004>
- Landa-Salgado, P., Caballero-Cervantes, Y., Ramírez-Bribiesca, E., Hernández-Anguiano, A. M., Ramírez-Hernández, L. M., Espinosa-Victoria, D., y Hernández-Sánchez, D. (2019). Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico para becerros del altiplano mexicano. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(1), 68-83. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4512>.
- Legislatura del Estado de Veracruz. (2018). Aprueban reforma que prevé reducir uso de bolsas de plástico en comercios. <https://cutt.ly/FOb32Jx>
- Ley Ambiental del Estado de San Luis Potosí. (2019). Aprueban en comisiones prohibir uso de envases de unicel en comercios. <https://cutt.ly/nOb37W5>
- Licea, G. R. (2019). Escolaridad y experiencia laboral en la diferencia salarial del mercado laboral en el Sector Agropecuario Mexicano. *RIESED-Revista Internacional de Estudios sobre Sistemas Educativos*, 2(9), 395-416. <https://cutt.ly/VOb8uCL>

- Liu, S. Q., Holland, R., y Crow, V. L. (2003). The potential of dairy lactic acid bacteria to metabolize amino acids via non-transaminating reactions and endogenous transamination. *International journal of food microbiology*, 86(3), 257-269. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00040-0)
- Lizardi-Jiménez, M. A., Ricardo-Díaz, J., Quinones-Munoz, T. A., Hernández-Rosas, F., y Hernández-Martínez, R. (2019). Fungal strain selection for protease production by solid-state fermentation using agro-industrial waste as substrates. *Chemical Papers*, 73(10), 2603-2610. <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00814-w>
- Llanes-Gil-López, D.I; Lois-Correa, J.A; Sánchez-Pardo, M.E; Orta-Guzman, V. N. (2017). Panorámica en México de la utilización de los residuos agroindustriales: residuos fibrosos de la caña de azúcar. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 51(1), 39–42. <https://cutt.ly/xTUu5F9>
- Medina, J., García, F., Paricaguán, B., Rojas, J., Castro, X., y Lugo, F. (2014). Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*Prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico)(PLA). *Revista INGENIERÍA UC*, 21(2), 52-59. <https://cutt.ly/9Ob7yba>
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Montesdeoca Tacoronte, E. L. (2021). *Micología predictiva en la industria alimentaria*. <https://cutt.ly/8Ob7bgb>
- Narciso-Ortiz, L., Coreño-Alonso, A., Mendoza-Olivares, D., Lucho-Constantino, C. A., y Lizardi-Jiménez, M. A. (2020). Baseline for plastic and hydrocarbon pollution of rivers, reefs, and sediment on beaches in Veracruz State, México, and a proposal

- for bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18), 23035-23047. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08831-z>
- Ngouénam, J. R., Kaktcham, P. M., Momo Kenfack, C. H., Foko Kouam, E. M., y Ngoufack, F. Z. (2021). Optimization of Lactic Acid Production from Pineapple By-Products and an Inexpensive Nitrogen Source Using *Lactiplantibacillus plantarum* strain 4O8. *International Journal of Food Science*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/1742018>
- Păucean, A., Vodnar, D. C., Mureșan, V., Fetea, F., Ranga, F., Man, S. M., ... y Socaciu, C. (2017). Monitoring lactic acid concentrations by infrared spectroscopy: A new developed method for *Lactobacillus* fermenting media with potential food applications. *Acta alimentaria*, 46(4), 420-427. <https://doi.org/10.1556/066.2017.0003>
- Peng, K., Koubaa, M., Bals, O., y Vorobiev, E. (2020). Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: A review. *Food Research International*, 109544. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109544>
- Pontes, R., Romaní, A., Michelin, M., Domingues, L., Teixeira, J., y Nunes, J. (2021). L-lactic acid production from multi-supply autohydrolyzed economically unexploited lignocellulosic biomass. *Industrial Crops and Products*, 170, 113775. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113775>
- Rafiq, M.A, y Kazmi, S.M. (2017). Impact of aid, export, and gdp per capita on the foreign direct investment (panel data analysis of twenty African and Asian economies). *Journal of ISOSS 2017 Vol. 3(1)*, 73-80. <https://cutt.ly/ITUiUBq>

- Rahmawati, N., Syukri, M., Darmawi, D., Zachreini, I., Yusuf, M., y Idroes, R. (2021). Identification of lactic acid bacteria from etawa goat milk kopelma Darussalam Village, Banda Aceh. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 667, No. 1, p. 012022). IOP Publishing. <https://cutt.ly/9Ob7M3m>
- Raj, K., y Krishnan, C. (2020). Improved co-production of ethanol and xylitol from low-temperature aqueous ammonia pretreated sugarcane bagasse using two-stage high solids enzymatic hydrolysis and *Candida tropicalis*. *Renewable Energy*, 153, 392-403. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.02.042>
- Raj, T., Chandrasekhar, K., Kumar, A. N., y Kim, S. H. (2021). Recent biotechnological trends in lactic acid bacterial fermentation for food processing industries. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1-27. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00044-w>
- Rebollar-Rebollar, E., Rebollar-Rebollar, S., Gómez-Tenorio, G., Guzmán-Soria, E. (2019). Efecto de las importaciones en la oferta regional de carne de pollo en México, 1996-2016. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 22 (2019): 465-475. <https://cutt.ly/XTUoW8J>
- Rojas, M. C. R., Morales-Rodriguez, R., y Rodriguez-Gomez, D. (2016). Producción de ácido láctico a partir de bagazo de caña residual de la industria azucarera. *Jóvenes en la Ciencia*, 2(1), 1594-1597. <https://cutt.ly/HOb5aWz>
- Sadaf, A., Kumar, S., Nain, L., y Khare, S. K. (2021). Bread waste to lactic acid: Applicability of simultaneous saccharification and solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, 101934. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101934>

- Sahu, O. (2018). Assessment of sugarcane industry: Suitability for production, consumption, and utilization. *Annals of Agrarian Science*, 16(4), 389-395.
<https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.08.001>
- Sánchez, R. T. (2020). La diversificación Como opción De Desarrollo De La Industria Azucarera En México (Doctoral dissertation, Centro de Investigacion y Docencia Economicas (Mexico)). <https://cutt.ly/5Ob5TUU>
- SEMARNAT, (2018). Contaminación por plásticos en el océano. Cifras alarmantes.
<https://cutt.ly/nTUpqN2>
- SEMARNAT, (2020). Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de los Residuos.
<https://cutt.ly/eTUpaxM>
- SEMARNAT, (2021). Producción y Consumo Sustentable. <https://cutt.ly/LOb5P2h>
- Sharma, A., Mukherjee, S., Tadi, S. R. R., Ramesh, A., y Sivaprakasam, S. (2021). Kinetics of growth, plantaricin and lactic acid production in whey permeate based medium by probiotic *Lactobacillus plantarum* CRA52. *LWT*, 139, 110744.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110744>
- Silalertruksa, T., Gheewala S.H. (2020). Competitive use of sugarcane for food, fuel, and biochemical through the environmental and economic factors. *The International Journal of Life Cycle Assessment* (2020) 25:1343–1355.
<https://doi.org/10.1007/s11367-019-01664-0>
- Silalertruksa, T., Pongpat, P., y Gheewala, S. H. (2017). Life cycle assessment for enhancing environmental sustainability of sugarcane biorefinery in Thailand. *Journal of Cleaner Production*, 140, 906–913.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.010>

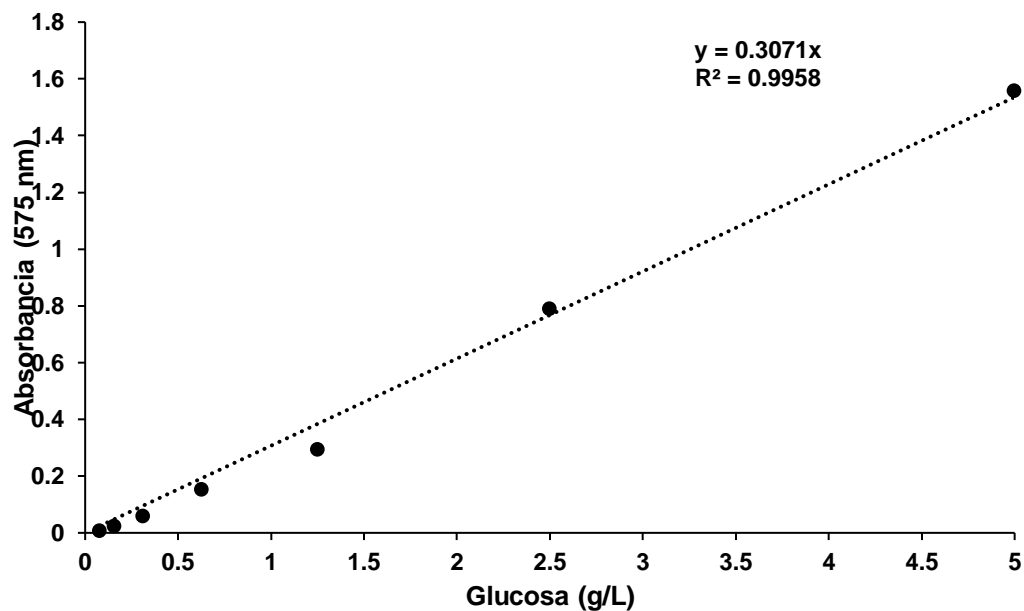
- Stavropoulou, E., y Bezirtzoglou, E. (2019). Predictive modeling of microbial behavior in food. *Foods*, 8(12), 654. <https://doi.org/10.3390/foods8120654>
- Sun, Y., Xu, Z., Zheng, Y., Zhou, J., y Xiu, Z. (2019). Efficient production of lactic acid from sugarcane molasses by a newly microbial consortium CEE-DL15. *Process Biochemistry*, 81, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.03.022>
- Tejada-Tovar, R., Tejada-Benítez, L., Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortíz, A., Granados-Conde, C. (2018). Use of post-harvest hawthorn yam (*Dioscorea rotundata* P.) in the extraction of lactic acid. *Prospectiva*, Vol 16, N° 1, 45-50, 2018. <https://doi.org/10.15665/rp.v16i1.1429>
- Tuquerres-Curipallo, H., Cerda-Mejía, G., Tenemasa, V., Diéguez-Santana, K., Carrera-Sánchez, K., Pérez-Martínez, A. (2020). Diseño del proceso para la obtención de ácido cítrico a partir del bagazo de caña disponible en Pastaza, Ecuador. *Centro Azúcar* Vol 47, No. 2, Abril-Junio 2020 (pp. 86-96). <https://cutt.ly/rOb576N>
- Vidra, A., Tóth, A. J., y Németh, Á. (2017). Lactic acid production from cane molasses. *Waste Treatment and Recovery*, 2(1), 13-16. <https://doi.org/10.1515/lwr-2017-0003>
- Villegas-Vilchis, A., Platas-Rosado, D., Gallardo-López, F., López-Romero, G. (2020). Análisis estructural MicMac para determinar las variables estratégicas de la agroindustria azucarera en México. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* volumen 11 número 6. <https://cutt.ly/rOb6sXc>
- Von Wright, A., y Axelsson, L. (2012). *Lactic acid bacteria: an introduction: Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects.* (4ta edición). Boca Raton: CRC Press. <https://cutt.ly/KOb6mGS>

- Zhang, X., Zhang, W., Lei, F., Yang, S., Jiang, J. (2020). Coproduction of xylooligosaccharides and fermentable sugars from sugarcane bagasse by seawater hydrothermal pretreatment. *Bioresource Technology* 309 (2020) 123385. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123385>
- Zhang, Z., Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., y Angelidaki, I. (2021). Impact of storage duration and micro-aerobic conditions on lactic acid production from food waste. *Bioresource Technology*, 323, 124618. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124618>
- Zhou, X., Ye, L., y Wu, J. C. (2013). Efficient production of L-lactic acid by newly isolated thermophilic *Bacillus coagulans* WCP10-4 with high glucose tolerance. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(10), 4309-4314. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4710-7>

Anexos

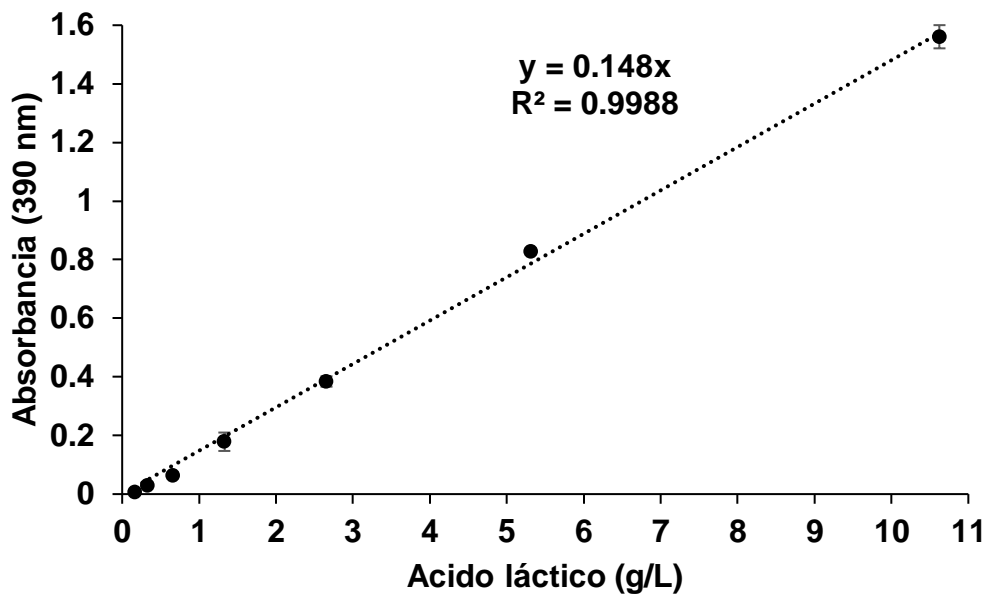
A. Curva patrón de azúcares reductores (Rango de detección: 0.078-5 g/L)

| Concentración de glucosa (g/L) | Absorbancia | | | Prom | Desv. Est. | Error. Est. |
|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|-------|------------|-------------|
| | Repetición 1 | Repetición 2 | Repetición 3 | | | |
| 5 | 1.548 | 1.561 | 1.560 | 1.556 | 0.007 | 0.004 |
| 2.5 | 0.783 | 0.793 | 0.790 | 0.788 | 0.005 | 0.002 |
| 1.25 | 0.294 | 0.284 | 0.299 | 0.292 | 0.007 | 0.004 |
| 0.625 | 0.143 | 0.17 | 0.144 | 0.152 | 0.015 | 0.008 |
| 0.312 | 0.066 | 0.056 | 0.052 | 0.058 | 0.007 | 0.004 |
| 0.156 | 0.034 | 0.014 | 0.018 | 0.022 | 0.010 | 0.006 |
| 0.078 | 0.002 | 0.013 | 0.003 | 0.006 | 0.006 | 0.003 |



B. Curva patrón para determinación de ácido láctico (rango de detección: 0.166-10.63 g/L)

| Concentración de ácido láctico (g/L) | Absorbancia | | | Promedio | Desv. Est. | Error. Est. |
|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|------------|------------|-------------|
| | Repetición 1 | Repetición 2 | Repetición 3 | | | |
| 10.63 | 1.502 | 1.636 | 1.544 | 1.56066667 | 0.06853709 | 0.03956991 |
| 5.31 | 0.82 | 0.829 | 0.83 | 0.82633333 | 0.00550757 | 0.0031798 |
| 2.66 | 0.403 | 0.401 | 0.349 | 0.38433333 | 0.0306159 | 0.0176761 |
| 1.33 | 0.195 | 0.223 | 0.118 | 0.17866667 | 0.05437217 | 0.03139179 |
| 0.66 | 0.058 | 0.068 | 0.063 | 0.063 | 0.005 | 0.00288675 |
| 0.33 | 0.038 | 0.022 | 0.029 | 0.02966667 | 0.00802081 | 0.00463081 |
| 0.166 | 0.002 | 0.003 | 0.015 | 0.00666667 | 0.00723418 | 0.00417665 |



C. Reactivos del medio Hugh-Leifson.

Para 1 L de medio se requiere:

| Reactivo | Marca | Cantidad (g) |
|----------------------|------------|--------------|
| Peptona de caseína | BD Bioxon | 2 |
| Extracto de levadura | BD Bioxon | 1 |
| NaCl | J.T. Baker | 5 |
| Fosfato dipotásico | Fermont | 0.3 |
| Azul de Bromotimol | S/M | 0.08 |
| Agar-Agar | BD Bioxon | 2.5 |
| Glucosa | Meyer | 10 |