



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

Posgrado en Tecnología Avanzada

**“EVALUACION DE CEPAS DE LACTOBACILOS
PRODUCTORAS DE ACIDO LACTICO EN SUSTRATOS
FORMULADOS A PARTIR DE
DESECHOS AGROINDUSTRIALES”**

TESIS

Que para obtener el Título de:

Maestro en Tecnología Avanzada

Presenta: **Reyna Gómez Flores**

Director: **Dr. Sergio Rubén Trejo Estrada**

RESUMEN

En la actualidad se ha incrementado la investigación orientada a la búsqueda de sub-productos agroindustriales que no han sido estudiados, para usarlos como potenciales fuentes de carbono o nitrógeno en procesos específicos de fermentación.

El mucílago de café forma parte de la cereza de café, es un polímero viscoso de color café claro, se encuentra adherido fuertemente al endocarpio, puede ser removido por fermentación seguida de un lavado o por un equipo mecánico. El uso de este equipo durante el procesamiento de la cereza de café para la obtención de los granos de café permite el ahorro de $\frac{3}{4}$ partes de agua que se usa en los procesos de fermentación tradicionales, por lo que a ese proceso se le conoce como Beneficio ecológico de café. El mucílago obtenido durante este proceso contiene nutrientes que pueden emplearse como fuente de carbono para la producción de metabolitos microbianos.

Por otra parte se encuentra las mieles finales de ingenio, en específico se trabajó con miel B, una miel de calidad intermedia de azúcares, proveniente de un paso de evaporación/cristalización del proceso de obtención de azúcar de caña.

Una colección de cepas de Lactobacilos fue evaluada por su facultad para crecer en pectina y ácido galacturónico como únicas fuentes de carbono. Se seleccionaron bacterias homofermentativas, en función a un medio diferencial M5 y se probó su capacidad de fermentación en un medio complejo para la producción de ácido láctico. Cepas de *Lactobacillus casei* y de *Lactobacillus rhamnosus*, fueron examinadas en diferentes formulaciones de medio de cultivo basados en 2 diferentes co-productos de disponibilidad regional, el mucílago de café y las miel B de caña de azúcar.

La importancia biotecnológica de las bacterias ácido lácticas con las que se trabajó, radica en la posibilidad de no utilizar en la composición del medio de fermentación aditivos costosos como peptona de caseína y/o extracto de levadura. La posibilidad de que estas bacterias pudieran crecer en sustratos complejos y producir ácido láctico se planteó como hipótesis de estudio.

Se probaron volúmenes de fermentación de 50, 80, 250 mL y 4 L. Se midieron azúcares reductores, carbohidratos totales, glucosa, UFC/mL, pH y ácido láctico.

El crecimiento de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus rhamnosus* en este medio indica que tienen enzimas capaces de degradar pectina (proveniente del mucílago), conocida como pectinasas. Asimismo se confirmó su capacidad de producir ácido láctico en medios de cultivos complejos, formulados en base a sustratos no convencionales. La innovación de la investigación radicó en el aprovechamiento de desechos agroindustriales que no habían sido estudiados con anterioridad.

El alcance tecnológico del proyecto es darle un valor agregado al procesamiento del café, al tener como otro producto comercializable al ácido láctico. El cual tiene una gran demanda nacional y que actualmente se importa casi en su totalidad.

ABSTRACT

In recent years, the research aimed at finding agro-products that have not been studied for use as potential sources of carbon or nitrogen in specific processes of fermentation has been increased.

The mucilage of coffee is part of the coffee cherry, is a polymer light brown viscous, is strongly attached to the endocarp, may be removed by fermentation followed by washing or by mechanical equipment. The use of this equipment during the processing of coffee cherries to obtain coffee beans saves three-quarters of water used in traditional fermentation processes, so this process is known as Benefit organic coffee. The mucilage found during this process contains nutrients that can be used as a carbon source for production of microbial metabolites. On the other hand, sugarcane molasses B, an intermediate quality molasse has been used in this study.

A collection of *Lactobacillus* strains were evaluated for their ability to grow on pectin and galacturonic acid as sole carbon sources. Homofermentative bacteria were selected on the basis of a differential medium M5 and tested their ability to fermentation in a complex medium for lactic acid production. Strains of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus*, were examined in different culture media formulations based on two different co-products of regional availability, mucilage of coffee and molasse B.

The biotechnological importance of lactic acid bacteria lies in the possibility of not using the composition of fermentation medium expensive additives such as casein peptone or yeast extract. The aim of the study is to evaluate cellular grow and lactic acid production of these lactic acid bacteria. Fermentation volumes tested were 50, 80, 250 mL and 4 L. The reducing sugars, total carbohydrate, glucose, CFU/mL, pH and lactic acid production were quantified.

The growth of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* in this environment indicates that they are enzymes capable of degrading pectin (from the mucilage), known as pectinases. It also confirmed its ability to produce lactic acid in complex culture media, formulated based on unconventional substrates. The innovation of the research lies in the use of agro-industrial wastes that had not been previously studied.

The technological scope of the project is adding value to coffee processing, having as another marketable product to lactic acid. This has a large domestic demand and currently it is imported from other countries.