



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN 1.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“PRODUCCIÓN Y APROVECHAMIENTO DE BIOMASA Y ÁCIDO
LÁCTICO, VÍA FERMENTACIÓN ANAEROBIA, A PARTIR DE LOS
RESIDUOS GENERADOS EN LA AGROINDUSTRIA
PILONCILLERA”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

DE LA INGENIERÍA

PRESENTA:

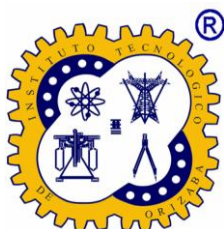
M.C. José Manuel Hernández Martínez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Eusebio Bolaños Reynoso



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO

FEBRERO 2026



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Orizaba

Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 05/02/2026

Dependencia: **División de Estudios de
Posgrado e Investigación**

Asunto: **Autorización de Impresión**
OPCION: I

C. JOSÉ MANUEL HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

Candidato a Grado de Doctor en:

CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

P R E S E N T E.-

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

"PRODUCCIÓN Y APROVECHAMIENTO DE BIOMASA Y ÁCIDO LÁCTICO, VÍA FERMENTACIÓN ANAEROBIA, A PARTIR DE LOS RESIDUOS GENERADOS EN LA AGROINDUSTRIA PILONCILLERA"

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

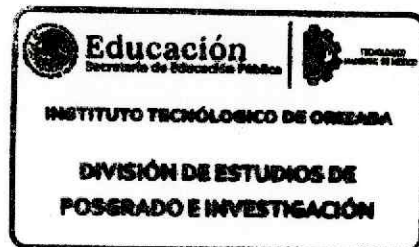
ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®

DR. OSCAR BÁEZ SENTÍES

**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



2026
año de
**Margarita
Maza**



Av. Oriente 9 #852 Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz
Tel. 01 (272) 1105360 info@orizaba.tecnm.mx www.orizaba.tecnm.mx



Instituto Tecnológico de Orizaba
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 22/enero/2026
Asunto: **Revisión de trabajo escrito**

C. ÓSCAR BÁEZ SENTÍES
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E.-

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

JOSÉ MANUEL HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

La cual lleva el título de:

"PRODUCCIÓN Y APROVECHAMIENTO DE BIOMASA Y ÁCIDO LÁCTICO, VÍA FERMENTACIÓN ANAEROBIA, A PARTIR DE LOS RESIDUOS GENERADOS EN LA AGROINDUSTRIA PILONCILLERA"

Y concluyen que se acepta.

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

PRESIDENTE: DR. JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS

SECRETARIO: DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO

VOCAL: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL: DR. ALBERTO ALFONSO AGUILAR LASSERRE

VOCAL : DR. ERIK SAMUEL ROSAS MENDOZA

VOCAL SUPLENTE: DR. LUIS ANTONIO LÓPEZ ESCOBAR

FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA



2026
año de
Margarita
Maza



Contenido

Lista de Figuras	6
Lista de Tablas.....	9
Resumen	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
Planteamiento del Problema	13
Justificación	15
Hipótesis	17
Objetivos.....	17
Objetivo General	17
Objetivos Específicos	17
Contribución al Conocimiento	18
Capítulo 1. Antecedentes.....	19
Capítulo 2. Estado del Arte.....	22
2.1 Agroindustria piloncillera	22
2.1.1 Producción de piloncillo.....	22
2.1.2 Residuos generados durante la producción de piloncillo	23
2.1.3 Alternativas de tratamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera.....	24
2.2 Fermentación anaerobia con bacterias ácido lácticas (BAL).....	24
2.2.1 Proceso de fermentación	24
2.2.2 Parámetros de operación de la fermentación.....	24
2.2.3 Ácido Láctico	27

2.2.4 Microorganismos productores de ácido láctico.....	28
2.2.5 Biomasa proteica	30
2.3 Modelos cinéticos de crecimiento microbiano en la fermentación.....	30
2.3.1 Fases del crecimiento microbiano	30
2.3.2 Modelos cinéticos.....	32
2.3.3 Modelo de Gompertz de 4 parámetros	32
2.4 Aplicación de bioinsumos en el desarrollo de especies agrícolas	33
2.4.1 Bioinsumos agrícolas	33
2.4.2 Aplicación de fermentos ácido lácticos en especies agrícolas	35
2.5 Cultivo de caña de azúcar (<i>S. officinarum</i>).....	36
2.5.1 Generalidades del cultivo	36
2.5.2 Aplicación de bioinsumos en el cultivo de caña de azúcar	38
2.6 Cultivo de chile habanero (<i>C. chinense</i>).....	38
2.6.1 Generalidades del cultivo	38
2.6.2 Aplicación de bioinsumos en el cultivo de chile habanero	40
2.7 Economía Circular	41
2.7.1 Fundamentos	41
2.7.1 Economía circular para el aprovechamiento de residuos agroindustriales	43
Capítulo 3. Metodología	45
3.1 Obtención y caracterización de los residuos de la agroindustria piloncillera	45
3.1.1 Determinación de pH, sólidos totales y sólidos totales volátiles	46
3.1.2 Determinación de Carbohidratos.....	47
3.1.3 Determinación de nitrógeno total y proteínas	49
3.2 Fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera	50

3.2.1 Acondicionamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera.....	50
3.2.2 Propagación y acondicionamiento de las cepas <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713 en medio sintético	50
3.2.3 Cinéticas de fermentación anaerobia de las soluciones de CP.....	52
3.3 Implementación de reactor a nivel laboratorio	53
3.3.1 Obtención de los parámetros cinéticos de densidad celular	54
3.4 Evaluación de la aplicación de los fermentos en el crecimiento de plántulas de chile habanero (<i>C. chinense</i>) y caña de azúcar (<i>S. officinarum</i>).....	54
3.4.1 Obtención y caracterización fisicoquímica de fermentos	54
3.4.2 Preparación de sustrato.....	55
3.4.3 Producción de plántulas de <i>C. chinense</i>	55
3.4.4 Pruebas de toxicidad en semillas de <i>C. chinense</i>	56
3.4.5 Producción de plántulas de <i>S. officinarum</i>	57
3.4.6 Determinación de la tasa agronómica para la aplicación de los fermentos.....	58
3.4.7 Aplicación de fermentos en plántulas de <i>C. chinense</i>	59
3.4.8 Aplicación de fermentos en plántulas de <i>S. officinarum</i>	60
Capítulo 4. Resultados y Discusión.....	63
4.1 Caracterización fisicoquímica de la CP, ALM y soluciones de CP.....	63
4.2 Cinéticas de fermentación anaerobia de CP	65
4.2.1 Comportamiento del pH.....	65
4.2.2 Consumo de sustrato, producción de ácido láctico y densidad celular	66
4.2.3 Producción de biomasa proteica.....	70
4.3 Parámetros cinéticos de densidad celular	72
4.4 Caracterización fisicoquímica de los fermentos	73
4.5 Aplicación de fermentos en plántulas de chile habanero (<i>C. chinense</i>)	75

4.5.1 Pruebas de toxicidad de fermentos en semillas de <i>C. chinense</i>	75
4.5.2 Efecto de fermentos en plantas y frutos de <i>C. chinense</i>	79
4.5.3 Contenido de biomasa en plantas de <i>C. chinense</i>	83
4.4.4 Contenido de capsaicina en frutos de <i>C. chinense</i>	84
4.6 Aplicación de fermentos en plántulas de caña de azúcar (<i>S. officinarum</i>)	86
4.6.1 Porcentaje de brotación de plántulas de caña de azúcar.....	86
4.6.2 Altura y parámetros cinéticos de crecimiento de plántulas.....	87
4.6.3 Numero de hojas y contenido de biomasa en plántulas de caña de azúcar	88
4.6.4 Impacto de la aplicación de los fermentos en las características fisicoquímicas del suelo	90
4.7 Análisis del mecanismo de transferencia de nutrientes	93
4.8 Enfoque de economía circular para la agroindustria piloncillera	94
Conclusiones.....	97
Recomendaciones	100
Referencias Bibliográficas.....	101
Productos Académicos	127
Anexos	129

Lista de Figuras

Figura 2.1. Diagrama del proceso de elaboración de piloncillo	23
Figura 2.2. Pretratamientos de sustratos para fermentación anaerobia	25
Figura 2.3. Isómeros del ácido láctico	27
Figura 2.4. Aplicaciones comerciales del ácido láctico y sus derivados	28
Figura 2.5. Rutas metabólicas de las bacterias productoras de ácido láctico	29
Figura 2.6. Curva típica de crecimiento microbiano (Madigan <i>et al.</i> , 2015).	31
Figura 2.7. Tipos de bioinsumos utilizados en agricultura (Rosales-Castillo <i>et al.</i> , 2025)..	34
Figura 2.8. Etapas fenológicas del cultivo de caña de azúcar (Romero <i>et al.</i> , 2009).....	37
Figura 2.9. Elementos de una planta de chile habanero: a) flores, b) frutos y c) planta con frutos.	39
Figura 3.1. Esquema general de la metodología experimental.....	45
Figura 3.2. Sitios de muestreo de los residuos de la agroindustria piloncillera a) CP y b) ALM.	46
Figura 3.3. Acondicionamiento de la CP y ALM previo a las pruebas de fermentación anaerobia.....	50
Figura 3.4. Cepas comerciales utilizadas para llevar a cabo la fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera: a) <i>L. acidophilus</i> LA-3 y b) <i>B. subtilis</i> QS-713. .	51
Figura 3.5. Resultado de la prueba de Gram para las cepas <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.....	52
Figura 3.6. Reactor utilizado para el escalamiento del proceso de fermentación.	53
Figura 3.7. Preparación de sustrato para trasplante de plántulas de <i>C. chinense</i> y <i>S.</i> <i>officinarum</i>	55
Figura 3.8. Plántulas de chile habanero seleccionadas para la aplicación de fermentos.....	56
Figura 3.9. Obtención de yemas para producción de plántulas de <i>S. officinarum</i>	58

Figura 3.10. Representación esquemática de la metodología utilizada para evaluar la aplicación de fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en plántulas de chile habanero (<i>C. chinense</i>).....	60
Figura 3.11. Representación esquemática de la metodología utilizada para evaluar la aplicación de fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en plántulas de caña de azúcar (<i>S. officinarum</i>).....	62
Figura 4.1. Comportamiento del pH durante la fermentación anaerobia de las soluciones de 50, 100 y 150 g CP/L con a) <i>L. acidophilus</i> LA-3 y b) <i>B. subtilis</i> QS-713.	65
Figura 4.2. Consumo de sustrato, producción de ácido láctico y densidad celular durante la fermentación anaerobia de las soluciones de a) 50, b) 100 y c) 150 g CP/L con <i>L. acidophilus</i> LA-3 (izq.) y <i>B. subtilis</i> QS-713 (der.).....	67
Figura 4.3. Contenido proteico de la biomasa generada durante la fermentación anaerobia de las soluciones de 50, 100 y 150 g CP/L con a) <i>L. acidophilus</i> LA-3 y b) <i>B. subtilis</i> QS-713.	70
Figura 4.4. Consumo de sustrato y densidad celular durante la fermentación anaerobia de la solución de CP en el reactor de 0.5 L con a) <i>L. acidophilus</i> LA-3 y b) <i>B. subtilis</i> QS-713.	72
Figura 4.5. Germinación de semillas de <i>C. chinense</i> en control (a), fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 (b) y <i>B. subtilis</i> QS-713 (c).	76
Figura 4.6. Índice de Germinación (IG), longitud de raíz (LR) de <i>C. chinense</i> durante las pruebas de toxicidad con los fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.....	77
Figura 4.7. Índice de Germinación Normalizado (IGN) e Índice de Elongación de Raíz (IER) de <i>C. chinense</i> durante las pruebas de toxicidad con los fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.....	78
Figura 4.8. Efecto de la aplicación de BI de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713 en plantas de <i>C. chinense</i> a 90 DDT.	79
Figura 4.9. Efecto de la aplicación de fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713 en frutos <i>C. chinense</i>	82

Figura 4.10. Contenido de capsaicina en los frutos de las plantas de <i>C. chinense</i> para cada uno de los tratamientos.	85
Figura 4.11. Porcentaje de brotación de las yemas de caña de azúcar con los diferentes tratamientos.	86
Figura 4.12. Altura de las plántulas de caña de azúcar para cada uno de los tratamientos. .	87
Figura 4.13. Efecto de la aplicación de los fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713 en a) plantas y b) partes aéreas y raíces de caña de azúcar a 60 DDT.	90
Figura 4.14. Esquema del mecanismo de transferencia de nutrientes en plántulas de chile habanero y caña de azúcar.	93
Figura 4.15. Enfoque de la Economía Circular aplicado a la agroindustria piloncillera.	95

Lista de Tablas

Tabla 2.1. Aportaciones al concepto de Economía Circular (Ugalde-Hernández, 2021). ...	42
Tabla 3.1. Parámetros para la caracterización de los residuos de la agroindustria piloncillera.	46
Tabla 3.2. Diluciones de la solución de glucosa 1 g/L para la obtención de la curva de calibración.	48
Tabla 3.3. Tratamientos aplicados a plántulas de <i>C. chinense</i>	59
Tabla 3.4. Tratamientos aplicados a plántulas de <i>S. officinarum</i>	61
Tabla 4.1. Caracterización fisicoquímica de la CP, ALM y soluciones de CP.	63
Tabla 4.2. Parámetros estimados del modelo de Gompertz de 4 parámetros para la densidad celular de las cepas <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.	73
Tabla 4.3. Caracterización fisicoquímica de los fermentos obtenidos a partir de la fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera.	74
Tabla 4.4. Variables agronómicas de plantas de <i>C. chinense</i> con aplicación de fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.	80
Tabla 4.5. Variables agronómicas de los frutos de <i>C. chinense</i> con aplicación de fermentos de <i>L. acidophilus</i> LA-3 y <i>B. subtilis</i> QS-713.	82
Tabla 4.6. Contenido de biomasa fresca y seca en plantas de chile habanero 90 DDT.	84
Tabla 4.7. Parámetros estimados del modelo de Gompertz de 4 parámetros para la altura de las plántulas de los tratamientos C, FC, LA y BS.	88
Tabla 4.8. Número de hojas y contenido de biomasa fresca y seca en plántulas de caña de azúcar 60 DDT.	89
Tabla 4.9. Caracterización fisicoquímica del suelo antes y después de la aplicación de los tratamientos.	91

Resumen

La producción de piloncillo es una actividad agroindustrial de gran importancia económica para las regiones donde se desarrolla, ya que representa una fuente de ingresos y empleo; sin embargo, esta agroindustria enfrenta diferentes desafíos, entre los que destacan el manejo de residuos y la reducción de su impacto ambiental. Entre estos residuos, se encuentran la cachaza piloncillera y el agua del lavado de moldes, los cuales, debido a su alto contenido de azúcares, provocan problemas de acidificación del suelo y eutrofización de los cuerpos de agua. Una opción de tratamiento para estos residuos es la fermentación anaerobia, ya que es un proceso biológico en el cual los carbohidratos presentes en los residuos se biotransforman hacia metabolitos con aplicaciones diversas. En el presente trabajo, se evaluó la fermentación anaerobia como una estrategia para el tratamiento, la valorización y el aprovechamiento de estos residuos, para la producción de ácido láctico y biomasa rica en proteínas y la posterior aplicación de los fermentos en los cultivos de chile habanero (*Capsicum chinense*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Se utilizaron las cepas *Lactobacillus acidophilus* LA-3 y *Bacillus subtilis* QS-713, y se cuantificó el consumo de carbohidratos, la producción de ácido láctico, la densidad celular, la generación de biomasa y su contenido proteico; así mismo, se determinaron los parámetros cinéticos de densidad celular. Luego, los fermentos se usaron en plántulas de *C. chinense* y *S. officinarum* para ver cómo afectaban el crecimiento de estas plantas. Los resultados obtenidos mostraron que el proceso de fermentación anaerobia es una opción viable para el tratamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera. Así mismo, la evaluación de los fermentos mostró que tienen el potencial para aprovecharse como bioestimulantes sin provocar efectos fitotóxicos a corto plazo en las plantas y el suelo. Además, la fermentación anaerobia con microorganismos probióticos se plantea como una estrategia de economía circular. Esto ayuda a promover la sostenibilidad económica y ambiental de la agroindustria piloncillera, la cual requiere de estrategias innovadoras para su desarrollo económico y tecnológico.

Palabras Clave: Agroindustria piloncillera; Fermentación Anaerobia; Ácido Láctico; Biomasa proteica; *Capsicum chinense*; *Saccharum officinarum*

Abstract

The production of non-centrifugal cane sugar is an agroindustrial activity of great economic importance for the regions where it is developed, since it represents a source of income and employment; however, this agroindustry faces different challenges, among which the management of waste and the reduction of its environmental impact stand out. Among these residues, there are the sugarcane scum and the molding washing water, which, due to their high sugar content, cause problems of soil acidification and eutrophication of water bodies. One treatment option for these residues is anaerobic fermentation, since it is a biological process in which the carbohydrates present in the residues are biotransformed into metabolites with diverse applications. In the present work, anaerobic fermentation was evaluated as a strategy for the treatment, valorization and utilization of these residues, for the production of lactic acid and protein-rich biomass and the subsequent application of the ferments in the crops of habanero pepper (*Capsicum chinense*) and sugar cane (*Saccharum officinarum*). The strains *Lactobacillus acidophilus* LA-3 and *Bacillus subtilis* QS-713 were used, and carbohydrate consumption, lactic acid production, cell density, biomass generation and its protein content were quantified; likewise, the kinetic parameters of cell density were determined. The ferments were then used on seedlings of *C. chinense* and *S. officinarum* to see how they affected the growth of these plants. The results obtained showed that the anaerobic fermentation process is a viable option for the treatment of waste from the non-centrifugal cane sugar agroindustry. Likewise, the evaluation of the ferments showed that they have the potential to be used as biostimulants without causing short-term phytotoxic effects on plants and soil. In addition, anaerobic fermentation with probiotic microorganisms is considered as a circular economy strategy. This helps to promote the economic and environmental sustainability of the non-centrifugal cane sugar agroindustry, which requires innovative strategies for its economic and technological development.

Keywords: Non-centrifugal cane sugar agroindustry; Anaerobic fermentation; Lactic acid; Protein-rich biomass; *Capsicum chinense*; *Saccharum officinarum*

Introducción

El aumento de la población ha conllevado a tener un incremento del impacto negativo al medio ambiente. Las actividades humanas implican el consumo de recursos y la generación de residuos, los cuales se disponen de manera inadecuada. Éstos pueden tener diferente origen, sin embargo, los relacionados con la producción de alimentos y actividades agroindustriales, son los que se generan en mayor cantidad.

Las actividades agroindustriales son de gran importancia, sobre todo en países en vías de desarrollo como México, siendo la agroindustria de la caña de azúcar una de las más importantes a nivel nacional ya que genera una derrama económica significativa, principalmente en áreas rurales. Dentro del sector agro cañero se encuentra la agroindustria piloncillera, la cual sigue manejando prácticas de producción artesanales y enfrentando problemas de diferente índole, como lo es el manejo de residuos.

El proceso de producción de piloncillo genera diversos residuos, como residuos de cosecha, bagazo, cachaza piloncillera y aguas residuales. Algunos de éstos se reutilizan como combustible para las operaciones donde se requiere energía calorífica, como la clarificación y evaporación del jugo de caña. La cachaza y las aguas residuales se disponen de forma inadecuada, y dado su alto contenido de carbohidratos, provocan acidificación de los cuerpos de agua y el suelo.

En el presente trabajo, se propone la fermentación anaerobia como una estrategia para el tratamiento, la valorización y el aprovechamiento de la cachaza piloncillera y el agua de lavado de moldes, para la producción de ácido láctico y biomasa rica en proteínas. Se utilizaron las cepas *Lactobacillus acidophilus* LA-3 y *Bacillus subtilis* QS-713 para llevar a cabo la fermentación. Posteriormente, los fermentos obtenidos se evaluaron como bioestimulantes de crecimiento vegetal en plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). La estrategia planteada promueve la sostenibilidad económica y ambiental de la agroindustria piloncillera, la cual requiere de estrategias innovadoras para su desarrollo económico y tecnológico.

Planteamiento del Problema

Los residuos agroindustriales hacen referencia a todos aquellos subproductos que se obtienen de actividades agrícolas, ganaderas y silvícolas, y los cuales en su mayoría no reciben tratamiento ni son aprovechados, siendo incinerados o vertidos de forma inadecuada generando graves problemas de contaminación ambiental (Azelee *et al.*, 2020). Por otra parte, los sistemas convencionales de producción agrícola hacen uso excesivo de fertilizantes químicos y pesticidas con el fin de incrementar los rendimientos y la producción, pero esto ha traído consigo la afectación del balance ecológico y la seguridad alimentaria, llegando a ser una de las principales causas de contaminación de suelo y agua (Raman *et al.*, 2022).

En México, el estado de Veracruz es el mayor proveedor de productos agroindustriales, mismos que durante su procesamiento generan alrededor de 7 millones de toneladas anuales de residuos, siendo el cultivo de caña de azúcar el que genera la mayor cantidad con 5.3 millones de toneladas anuales (Nava-Pacheco *et al.*, 2019). La mayor parte de la producción se destina a los ingenios azucareros, mientras que el resto se procesa para la producción de piloncillo (NCS), el cual es un sólido obtenido por la concentración de jugo de caña a presión atmosférica, el cual mediante un proceso artesanal es cristalizado y moldeado en bloques de diferentes tamaños, formas y colores (Aguilar-Rivera & Olvera-Vargas 2021).

La agroindustria piloncillera enfrenta diferentes desafíos entre los que destacan la falta de asistencia tecnológica y financiamiento, que le permita una reconversión y diversificación productiva, además la vinculación, desarrollo, transferencia y adopción de tecnologías con los centros de investigación de la región es marginal (Cabrera-Martínez & Aguilar-Rivera 2019). Así mismo, enfrenta problemas de tipo medio ambiental ya que se tiene un nulo manejo y aprovechamiento de los residuos generados durante la producción de NCS, entre los que destacan la cachaza piloncillera y las aguas del lavado del área de moldes.

El proceso típico de producción de NCS incluye una etapa de clarificación del jugo en la que se genera un residuo líquido coloidal de color negro, llamado cachaza, y con el que tradicionalmente se tienen pobres o nulas prácticas en su manejo, generando malos olores y riesgo ecológico (Mendieta *et al.*, 2020a). Además, se generan aproximadamente 500 L de aguas residuales por tonelada de NCS durante el lavado de moldes, mesas y pisos del cuarto

de batido y moldeo, estas aguas contienen cerca del 0.5% de sólidos disueltos, en su mayoría azúcares que favorecen el crecimiento de microorganismos que provocan la eutrofización de cuerpos de agua (García *et al.*, 2007).

Entre las alternativas de tratamiento para estos residuos se han propuesto diferentes procesos, tales como digestión anaerobia, codigestión con residuos del cultivo de caña, producción de bioetanol, hidrógeno y celulosa (Mendieta *et al.*, 2020a; Mendieta *et al.*, 2020b; Sánchez *et al.*, 2017, 2019; Khattak *et al.*, 2015). La digestión y codigestión anaerobia tienen la desventaja de requerir tiempos largos para la adaptación de los microorganismos al sustrato, la aplicación de un tratamiento a los subproductos generados en el proceso y la generación de gases de efecto invernadero (Obileke *et al.*, 2021). Mientras que para la producción de etanol, hidrógeno y celulosa es necesario aplicar un pretratamiento al residuo, tener un mayor control en las condiciones de operación del proceso y el uso de químicos en diferentes etapas del mismo (Carrillo-Nieves *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021).

Justificación

En los últimos años se ha dado un incremento en la tendencia del uso de residuos orgánicos industriales y derivados de actividades agrícolas, tales como pajas, mazorcas, pulpas de papel y madera, residuos de cultivos y materias primas procesadas, para la producción de biopolímeros y bioenergía (Baltaci & Hamamci, 2020). En el caso de la agroindustria piloncillera, la cachaza se utiliza para alimentación de ganado o se vierte cerca de cuerpos de agua, entonces, debido a la falta de un manejo adecuado de residuos, se hace necesario buscar alternativas eficientes, accesibles y sustentables para el tratamiento de los mismos y que beneficie a este sector agroindustrial (Mendieta *et al.*, 2020b).

Con el fin de generar productos de valor agregado a partir de residuos orgánicos, se ha incrementado el uso de tecnologías emergentes que involucran la aplicación de microorganismos anaerobios para llevar a cabo la fermentación, permitiendo que los carbohidratos presentes en estos residuos puedan ser fermentados para producir ácido láctico, etanol, ácidos grasos volátiles e hidrógeno (De Groof *et al.*, 2021). Entre los procesos anaerobios se encuentra la fermentación anaerobia con microorganismos probióticos, la cual mejora las propiedades nutricionales y el valor funcional de los sustratos, aumenta su vida útil y seguridad microbiológica, además de mejorar sus características sensoriales, mientras que los compuestos no nutricionales y contenido de azúcares disminuye (Jamnik *et al.*, 2022).

La fermentación anaerobia con microorganismos probióticos es una opción sustentable para el manejo de residuos orgánicos agroindustriales ya que, por sus características fisicoquímicas, abundancia y renovabilidad pueden ser utilizados como sustrato, además de disminuir su impacto al medio ambiente (Rawoof *et al.*, 2021). La fermentación anaerobia es un proceso en el cual los carbohidratos presentes en el sustrato son biotransformados por bacterias ácido lácticas hacia ácido láctico como producto principal (Nwamba *et al.*, 2021), aunque también se generan otros metabolitos de interés como las bacteriocinas, exopolisacáridos, vitaminas y ácido gama-aminobutírico (Wang *et al.*, 2021).

Los fermentos conteniendo LAB se utilizan principalmente en el procesamiento de alimentos, y en los últimos años se han aplicado en sistemas agrícolas para el mejoramiento de suelos, el control de enfermedades y la promoción del crecimiento de plantas (Lamont *et al.*, 2017). Las LAB tienen la capacidad de suprimir la acción de fitopatógenos y la estimulación del crecimiento de las plantas al modular la absorción de nutrientes como fósforo y potasio, la fijación de nitrógeno, la producción de hormonas y sideróforos (Jaffar *et al.*, 2023). Los fermentos conteniendo LAB se han aplicado con éxito en el desarrollo de especies agrícolas como lechuga, tomate, maíz, soya y papa (Bellotti *et al.*, 2022; Naamala *et al.*, 2023).

La aplicación de microorganismos probióticos también proporciona beneficios a la estructura del suelo, tales como, una mejor aireación, la reducción de la densidad aparente, el aumento en el contenido de agregados y el incremento de la porosidad, lo cual permite mitigar la compactación del suelo, además se mejora la permeabilidad del agua, favoreciendo el crecimiento de las raíces de las plantas y en consecuencia se presenta una mayor absorción de nutrientes y agua (Wei *et al.*, 2024). Sumado a los beneficios en plantas y suelo, el uso de bioestimulantes conteniendo LAB permite mejorar la economía de los productores agrícolas mediante la disminución de costos ligados al uso de fertilizantes convencionales y el incremento de la productividad de sus cultivos (Xu & Geelen, 2018).

Hipótesis

Es posible la valorización de los residuos generados en la producción de piloncillo mediante el uso de la fermentación anaerobia con microorganismos probióticos mediante el aprovechamiento de los subproductos del proceso fermentativo, biomasa y ácido láctico, como bioestimulantes en cultivos de interés para la agroindustria piloncillera.

Objetivos

Objetivo General

Determinar las condiciones del proceso de la fermentación anaerobia de la cachaza piloncillera y el agua de lavado de moldes para la obtención de subproductos de valor, biomasa y ácido láctico, y su posterior aprovechamiento como bioestimulantes en cultivos de interés para la agroindustria piloncillera.

Objetivos Específicos

- Establecer la concentración de los residuos de la producción de piloncillo a la cual se desarrolle la fermentación anaerobia.
- Obtener los parámetros cinéticos de crecimiento de los microorganismos probióticos en el proceso de fermentación.
- Implementar un reactor para la operación del proceso a nivel laboratorio para determinar las condiciones de operación adecuadas para el desarrollo del proceso fermentativo.
- Realizar la caracterización fisicoquímica de la biomasa y el caldo de fermentación.
- Evaluar la efectividad de los subproductos de la fermentación anaerobia como bioestimulantes en los cultivos de chile habanero (*Capsicum chinense*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

Contribución al Conocimiento

En el presente trabajo, se evaluó el uso de la cachaza piloncillera y el agua de lavado de moldes, residuos que se generan durante la producción de piloncillo, como nuevos sustratos para llevar a cabo la fermentación anaerobia con microorganismos probióticos. Lo anterior, representa contar con una nueva estrategia de tratamiento y valorización de residuos enfocada a la mitigación de los gases de efecto invernadero y la producción de metabolitos de interés agrícola e industrial, como las biomasas probióticas proteicas.

A partir del estudio del proceso de la fermentación anaerobia de la cachaza piloncillera y el agua de lavado de moldes, se obtuvieron los parámetros cinéticos del crecimiento poblacional de las especies *Lactobacillus acidophilus* LA-3 y *Bacillus subtilis* QS-713, así mismo, se obtuvieron datos de las condiciones operativas del proceso como modo de operación y concentración del sustrato, los cuales son de utilidad para la implementación, operación y control del proceso a una mayor escala.

Con la evaluación de los fermentos obtenidos del proceso fermentativo como bioestimulantes en los cultivos de chile habanero (*Capsicum chinense*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), se obtuvieron los parámetros cinéticos de crecimiento de las especies vegetales y el impacto en las características fisicoquímicas del suelo. Esta información es de utilidad ya que permite establecer la dosis y frecuencia de aplicación de los bioestimulantes en la cual existe un mejor desarrollo de la planta sin presentarse efectos fitotóxicos.

Capítulo 1. Antecedentes

La fermentación anaerobia es un proceso que en los últimos años se ha planteado como alternativa para el aprovechamiento de residuos orgánicos de diferente origen como lo son: los lignocelulósicos, de alimentos, la fracción orgánica de residuos municipales y residuos agroindustriales para la obtención de biocombustibles, químicos, enzimas, biofertilizantes y biomasa proteicas (Khoshnevisan *et al.*, 2019; Tsapekos *et al.*, 2020; Yaashika *et al.*, 2022).

Romero-Mota *et al.*, (2023) aplicaron el proceso de bioconversión anaerobia con *Lactobacillus acidophilus* de los residuos de cosecha de caña de azúcar, a diferentes velocidades de agitación (100, 150 y 200 rpm) encontrando que a 100 rpm el microorganismo se adaptó mejor al sustrato y se obtuvo la mayor producción de ácido láctico, siendo de 54.16 g LA/L.

Por otra parte, Estrada-García *et al.*, (2023) estudiaron el efecto en los parámetros reológicos en el proceso bioconversión anaerobia de residuo porcícola adicionado con melaza, utilizando el microorganismo *L. acidophilus*, y determinaron que la transferencia de masa es favorable a bajas velocidades de agitación (100 rpm), además durante el avance del proceso de fermentación y la presencia de subproductos de éste, afectan las características del fluido iniciando como un fluido dilatante y terminando con un comportamiento pseudoplástico.

Otro estudio que evaluó la fermentación anaerobia de residuos de origen agroindustrial fue el desarrollado por Sánchez-Valeriano *et al.*, (2022), quienes fermentaron residuos de maíz blanco a diferentes concentraciones de inóculo de *L. acidophilus* (5,10 y 15%) para obtener biomasa y ácido láctico, concluyendo que con el porcentaje de inóculo más alto se obtiene una mayor cantidad de biomasa (14.57 g/L) y ácido láctico (6.75 g LA/L).

Holgado *et al.*, (2021) realizaron la fermentación in vitro de residuos de alcachofa con *L. acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, y los resultados mostraron que los microorganismos tuvieron un mayor crecimiento en los residuos que en el experimento de control (sacarosa), pero no se presentó una reducción considerable del pH, debiéndose a una baja producción de ácido láctico.

Un nuevo sustrato al cual se le evaluó su potencial para utilizarse en el proceso fermentativo fue el polen de abeja. Este estudio fue desarrollado por Mora-Adames *et al.*, (2021) y consistió en el uso de tres diferentes cepas de microorganismos para llevar a cabo la fermentación ácido láctica. De acuerdo a los resultados, las mejores condiciones para el desarrollo del proceso fueron una relación 2:1 de agua y polen, un pH inicial del sustrato de 5.8 y la aplicación de un pretratamiento a 115°C y 80 kPa durante 10 min. El microorganismo que mejor desempeño presentó en cuanto a producción de ácido láctico fue el *L. acidophilus* NCFM con una concentración de 1.68% después de 30 h.

Un aspecto importante durante el estudio del proceso de fermentación es el relacionado con los costos, así Macedo *et al.*, (2020), realizaron la optimización de la producción de ácido láctico con *L. acidophilus* y *L. amylovorus*, fermentando bagazo de yuca y licor de maíz. Se encontró que durante el proceso en modo batch y sin control de pH, se obtuvo la mayor concentración (31.6 g/L) y productividad (0.11 g/L h) de ácido láctico con la cepa *L. amylovorus* utilizando 14% de bagazo de yuca y 10% de licor de maíz. El costo calculado del sustrato utilizado fue de 0.05 US\$/L.

Los residuos de la agroindustria piloncillera, en especial la cachaza piloncillera, se ha evaluado como sustrato para llevar a cabo la digestión anaerobia por Mendieta *et al.*, (2020a), encontrando que el mayor rendimiento de metano ($0.227 \text{ N m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}$) se obtuvo con una disolución al 12.5% de cachaza, además hubo una remoción de materia orgánica mayor al 70%. Además, Mendieta *et al.*, (2020b) investigaron el efecto sinérgico de la cachaza piloncillera con residuos de cosecha de la caña de azúcar durante el proceso de codigestión anaerobia, concluyendo que se obtiene un rendimiento máximo de metano de $0.276 \text{ N m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}$ con la relación 75% de residuos y 25% de cachaza.

Generalmente, los fermentos obtenidos del proceso fermentativo son sometidos a un proceso de purificación para la obtención de una serie de compuestos en especial (Ahmad *et al.*, 2021), sin embargo, en algunos casos los fermentos pueden utilizarse sin purificarse para aprovechar la mezcla de metabolitos y microorganismos probióticos, para su aplicación en el desarrollo de especies vegetales (Andreev *et al.*, 2017).

Así, Pinter *et al.*, (2022) realizaron la aplicación de fermentos obtenidos vía fermentación ácido láctica como bioestimulantes en el crecimiento de plantas de lechuga y tomate, y

concluyeron que las plantas bajo el tratamiento con fermentos presentaron un mayor contenido de biomasa aérea y mayor contenido de clorofila. Caballero *et al.*, (2020) realizaron la fermentación anaerobia de lactosuero con la cepa probiótica *L. rhamnosus*, posteriormente realizaron la purificación del fermento y evaluaron su capacidad bioestimulante y de biocontrol en el suelo, observando que los metabolitos presentes favorecieron la actividad de microorganismos considerados como promotores de crecimiento de plantas.

Capítulo 2. Estado del Arte

2.1 Agroindustria piloncillera

2.1.1 Producción de piloncillo

La evaporación del jugo de caña de azúcar da como resultado la generación de un producto sólido conocido como azúcar de caña no centrifugado, que es el nombre técnico utilizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO); en la mayoría de los lugares donde se cultiva la caña de azúcar, se ha consumido tradicionalmente como edulcorante y en estas regiones, se conoce con diversos nombres, entre los que destacan jaggery (Asia meridional), panela o piloncillo (América Latina), muscovado (Filipinas) y kokuto (Japón) (Jaffé, 2012).

En México, la producción de piloncillo participa con el 2.3% de la producción nacional de endulzantes provenientes de la caña de azúcar, con un promedio de 115 mil toneladas, siendo la región de Huatusco una de las principales productoras de piloncillo en el estado de Veracruz, con una superficie sembrada de caña de 1050 Ha y una producción de 73,500 toneladas (Servin-Juárez *et al.*, 2018). Los principales usos que se le da a este edulcorante son la preparación de bebidas refrescantes, bebidas calientes como el café, el chocolate y los téis, elaboración de salsas para carne y repostería, conservas de frutas y verduras, mermeladas, endulzar jugos, bizcochos, galletas y postres, y en la cocina de platillos típicos (Cabrera Martínez, 2017).

Por otro lado, la agroindustria piloncillera se enfrenta a múltiples retos, entre los que se incluyen la proporción entre caña de azúcar y piloncillo, las deficiencias en el proceso de producción, la utilización de variedades de caña de azúcar adecuadas para la producción de piloncillo, la falta de infraestructura y equipamiento, el impacto en la economía regional, el tipo de energía que se utiliza, la tecnología disponible, la diversidad de productos, la calidad y la comercialización, la organización de los productores, los impactos ambientales, la utilización de subproductos y la sostenibilidad, los aspectos políticos y legislativos y la certificación internacional, además, otro aspecto a tener en cuenta es que la conectividad, el

desarrollo, la transferencia y la aceptación de tecnologías con los centros de investigación de la región son mínimos o inexistentes. (Cabrera-Martínez & Aguilar-Rivera, 2019).

2.1.2 Residuos generados durante la producción de piloncillo

Durante el proceso de producción de piloncillo se genera una gran cantidad de residuos, tales como, cogollos, hojas, pajas, bagazo, melaza y cachaza cuyas características y eficiente utilización les convierte en productos con un valor comercial que pudiera brindar beneficios económicos (Madrigal-Pérez, 2019). En la Figura 2.1 se muestra el diagrama del proceso de producción de piloncillo.

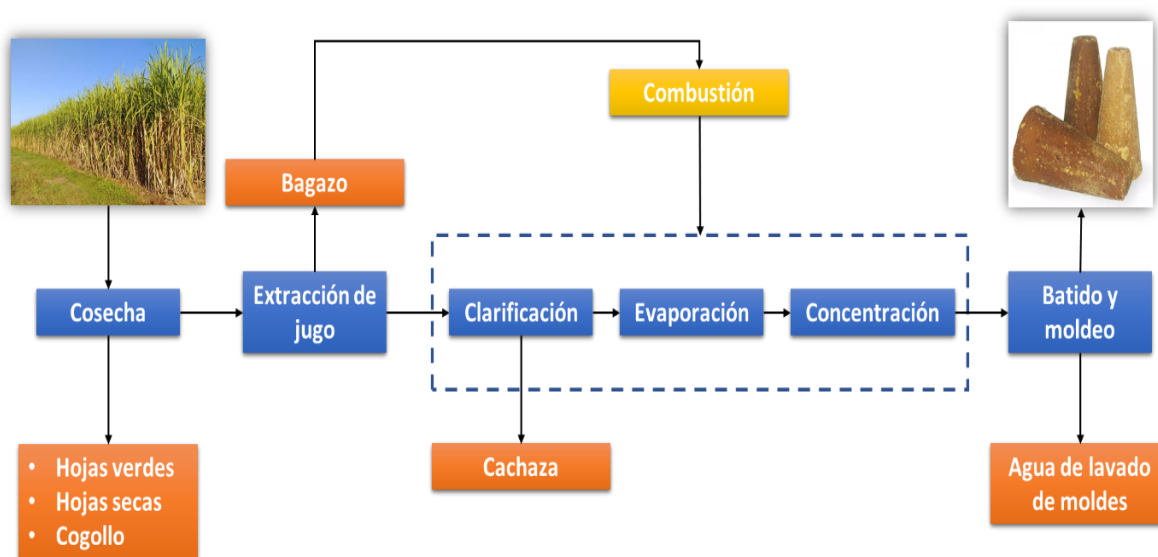


Figura 2.1. Diagrama del proceso de elaboración de piloncillo.

De la caña utilizada en el proceso de producción de piloncillo, 41.4 – 45.2% corresponde a jugo de caña, 30.2 – 34% es bagazo, el cual se utiliza como fuente de energía para la evaporación del jugo, y el 24.6% restante corresponde a residuos, de los cuales el 21.6% son residuos del cultivo y 3% es cachaza (Mendieta *et al.*, 2020c).

El proceso típico de producción de piloncillo incluye una etapa de clarificación del jugo en la que se obtiene un residuo líquido coloidal de color negro, llamado cachaza y para el que las agroindustrias piloncilleras tienen pobres o nulas prácticas en su manejo, provocando contaminación de suelo y cuerpos de agua (Mendieta *et al.*, 2020a).

Otro residuo generado en el proceso, es el agua de lavado de moldes, éstas se producen durante el lavado de moldes, mesas y pisos del cuarto de batido y moldeo, generándose aproximadamente 500 L por tonelada de piloncillo, estas aguas contienen cerca del 0.5% de sólidos disueltos, en su mayoría azúcares que favorecen el crecimiento de microorganismos que provocan la eutrofización de cuerpos de agua (García *et al.*, 2007).

2.1.3 Alternativas de tratamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera

El principal uso que se le da a la cachaza es como alimento de animales, pero, generalmente ésta no se dispone de manera adecuada, haciendo que sea un grave problema ambiental (Mendieta *et al.*, 2020b). Otras alternativas de tratamiento que se han propuesto son la digestión anaerobia, codigestión anaerobia con residuos de cultivo de caña, producción de bioetanol, hidrógeno y celulosa (Mendieta *et al.*, 2020a; Sanchez *et al.*, 2017, 2019; Khattak *et al.*, 2015). En cuanto al tratamiento de las aguas residuales se ha planteado un sistema que consta de un tanque séptico acompañado de un sistema de infiltración en terreno, como zanjas y pozos filtrantes (García *et al.*, 2007).

2.2 Fermentación anaerobia con bacterias ácido lácticas (BAL)

2.2.1 Proceso de fermentación

Cuando se tiene la ausencia de oxígeno, la fermentación es el proceso que se utiliza para la generación de energía a partir de la oxidación parcial de glucosa y otras fuentes de carbono, esta oxidación se realiza, principalmente, a través de las rutas de Emden – Meyerhoff y Parnas (EMP) o Entner – Doudoroff (ED), generando piruvato, adenosina trifosfato (ATP) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), mismos que son reducidos por la ausencia de aceptores externos de electrones, siendo el paso más importante el avance del proceso de fermentación y exista la generación de subproductos como ácido láctico y etanol (Ciani *et al.*, 2008).

2.2.2 Parámetros de operación de la fermentación

El desempeño del proceso de fermentación depende de diversos factores tales como, la calidad del sustrato y su pretratamiento, el inóculo utilizado y de las condiciones de operación, como el pH, temperatura y contenido de sólidos totales durante la bioconversión (Chenebault *et al.*, 2022). Recientemente, se ha buscado el uso de sustratos que permitan

reducir los costos de operación, entre los que destacan los residuos de: alimentos, silvicultura, municipales y desechos agrícolas, los cuales son generados en cantidades considerables y debido a su mala gestión y manejo se generan graves problemas de salud y medioambientales (Ahmad *et al.*, 2020)

Es necesario aplicar un pretratamiento que permita eliminar la lignina y la hemicelulosa, además de reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad de los materiales lignocelulósicos, ya que la mayoría de los residuos mencionados anteriormente están compuestos por materiales lignocelulósicos, que son muy difíciles de degradar (Kumar *et al.*, 2009). En la etapa de pretratamiento, la biomasa macroscópica y microscópica, y los compuestos químicos se rompen para lograr una hidrólisis más rápida del polímero de carbohidratos que produce mayores rendimientos de azúcares monoméricos (Ojo & de Smidt, 2023). Los diferentes métodos empleados en el pretratamiento de materiales lignocelulósicos se presentan en la Figura 2.2.

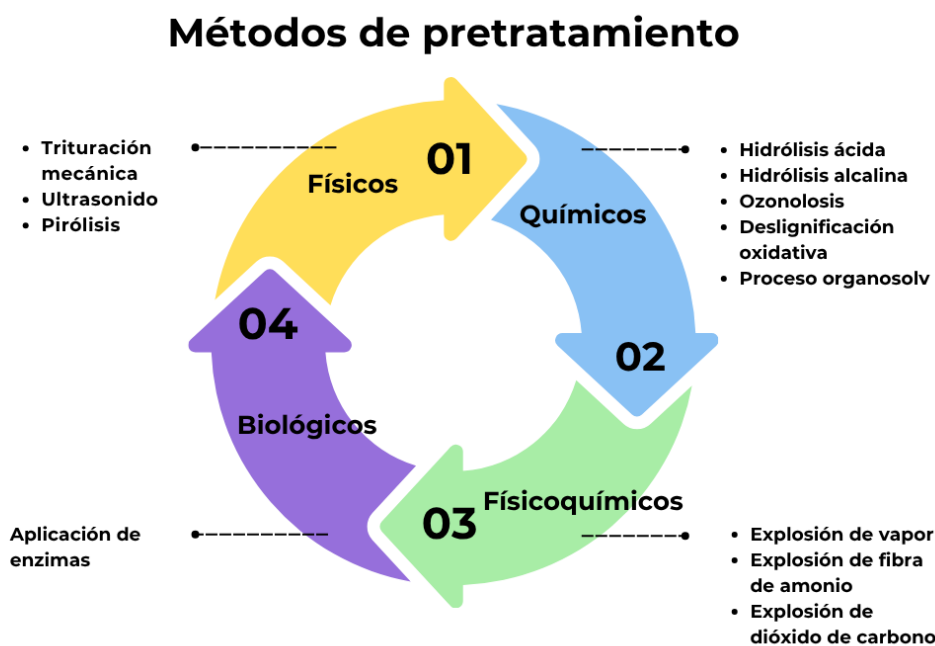


Figura 2.2. Pretratamientos de sustratos para fermentación anaerobia (Ojo & de Smidt, 2023).

El pH es uno de los parámetros críticos de la fermentación anaerobia, ya que este puede afectar las enzimas involucradas en el proceso metabólico y el transporte de nutrientes de las

células (Ahmad *et al.*, 2020). Generalmente, el pH se debe mantener entre 5 y 7, ya que la producción de ácido láctico reduce el pH del medio durante la fermentación lo que lleva a una disminución en el crecimiento microbiano y producción de este ácido (Rawoof *et al.*, 2020).

La temperatura incrementa el crecimiento microbiano, y por ende la producción de ácido láctico, además de hidrolizar el sustrato. La fermentación anaerobia de puede desarrollar a temperatura: ambiente (15-27°C), mesofílica (25-40°C), termofílica (40-65°C) e incluso a temperaturas mayores a 80°C (Peinemann & Pleissner, 2020). La temperatura optima de la fermentación depende de muchos factores, como el tipo de sustrato, la cepa utilizada, así como la pureza de la misma, por lo que establecer un valor optimo resulta complicado (Wang & Sonomoto, 2015).

El tamaño de inóculo también influye en diferentes aspectos del proceso fermentativo, así cuando el tamaño del inóculo se encuentra entre 5-10% (v/v), se restringe la fermentación hetero láctica y se reduce el tiempo de acondicionamiento de los microorganismos, sin embargo, el tamaño de inóculo depende de diversos factores, como la cepa microbiana, el sustrato utilizado y los costos de operación, así tamaños de inóculo grandes incrementan los costos y provocan un rápido agotamiento de los nutrientes, en cambio tamaños pequeños podrían resultar insuficientes para la generación de biomasa (Abdel-Rahman & Sonomoto, 2016).

En el caso del contenido de sólidos, el rango óptimo para el desarrollo del proceso fermentativo se encuentra entre 4-7%, con esto se asegura que los mecanismos de transferencia de masa a nivel celular de los microorganismos puedan desarrollarse y no se afecte la transferencia de nutrientes, y por ende su crecimiento (Abid *et al.*, 2021), así mismo, valores altos de sólidos totales afectan la viscosidad del medio disminuyendo la eficiencia de consumo de sustrato por parte de los microorganismos (Ahmadi-Pirlou & Gundoshmian, 2021).

En cuanto a los requerimientos de nutrientes, estos pueden variar de una cepa a otra, y en consecuencia también se afecta su capacidad de proliferación en el medio que se encuentren (Polak-Berecka *et al.*, 2011). Generalmente, los medios de crecimiento para los microorganismos probióticos se componen de carbohidratos (fuente de carbono), proteínas

que en su mayoría formadas de péptidos y aminoácidos y agentes buffer, además de vitaminas y minerales (Yeboah *et al.*, 2023).

2.2.3 Ácido Láctico

El metabolismo glucolítico anaeróbico de la glucosa da lugar a la producción de ácido láctico, también conocido como ácido 2-hidroxipropanoico ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) (Escobar Carrera, 2019). Es el más simple de los ácidos hidrocarboxílicos y existe en dos formas ópticamente activas (Fig. 2.3), la forma levógira L (+) ácido láctico o (S) ácido láctico y la forma dextrógira D (-) ácido láctico o (R) ácido láctico (Alvarado-Morales *et al.*, 2021).

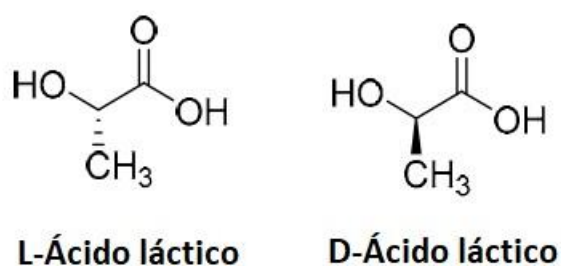


Figura 2.3. Isómeros del ácido láctico (Sisti, *et al.*, 2021).

Fue descubierto en 1780 por Carl Scheele al aislarlo de la leche agria. Aunque su producción industrial comenzó en 1881 en Littleton, EUA, la demanda sigue aumentando y se espera que alcance las 1960 kT en 2025 (Grewal, *et al.*, 2020). Debido a la presencia de dos grupos funcionales reactivos, el hidroxilo (-OH) y el carboxilo (-COOH), el ácido láctico puede someterse a diferentes conversiones químicas, lo cual lo convierte en una plataforma química muy versátil con un sinnúmero de aplicaciones en diferentes industrias (Fig. 2.4) (Alvarado-Morales *et al.*, 2021).



Figura 2.4. Aplicaciones comerciales del ácido láctico y sus derivados (Ahmad *et al.*, 2020).

2.2.4 Microorganismos productores de ácido láctico

Los procesos para sintetizar el ácido son la vía química y la biotecnológica, esta última presenta varias ventajas como la obtención de un producto de mayor pureza, una operación más sencilla, el uso de materias primas de bajo costo, condiciones moderadas de operación (presión y temperatura), reducción del riesgo de contaminación, bajo consumo de energía y un menor impacto ambiental (Alvarado-Morales *et al.*, 2021; Singhvi & Sonomoto, 2018).

Los principales microorganismos utilizados en la ruta biotecnológica son hongos, principalmente del género *Rhizopus*, y bacterias como *Corynebacterium glutamicum*, *Eschericia coli*, cepas del género *Bacillus* y Acido Lácticas (BAL) (Grewal *et al.*, 2020). Las BAL son los microorganismos más utilizados para la producción de ácido láctico a nivel industrial y éste se obtiene por la ruta de la glucólisis de hexosas y pentosas bajo condiciones

anaerobias, y la productividad y rendimiento depende del pH (3.5 – 9.6), temperatura (5 – 45°C), el contenido de nutrientes y la cepa utilizada (*Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Oenococcus* y *Weissella*) (Abedi & Hashemi, 2020).

La mayoría de los procesos de fermentación utilizan bacterias del género *Lactobacillus*, ya que se tienen rendimientos más altos de ácido láctico, algunas cepas producen el isómero L, tal como *L. amylophilus*, *L. bavaricus*, *L. casei* y *L. maltaromicus*, mientras que cepas como *L. delbrueckii*, *L. jensenii* y *L. acidophilus* producen el isómero D o una mezcla de ambos isómeros (Sisti *et al.*, 2021).

Las BAL metabolizan los azúcares por diferentes rutas, las homofermentativas u homolácticas metabolizan los azúcares por la vía EMP o glucolítica, en la que a partir de la glucosa se obtienen dos moléculas de piruvato, y éste se transforma en ácido láctico, mientras que las BAL heterofermentativas o heterolácticas, metabolizan los azúcares por la ruta de las pentosas fosfato y donde el producto final es ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y/o ácido acético (Fig. 2.5) (Torres Pascual, 2019).

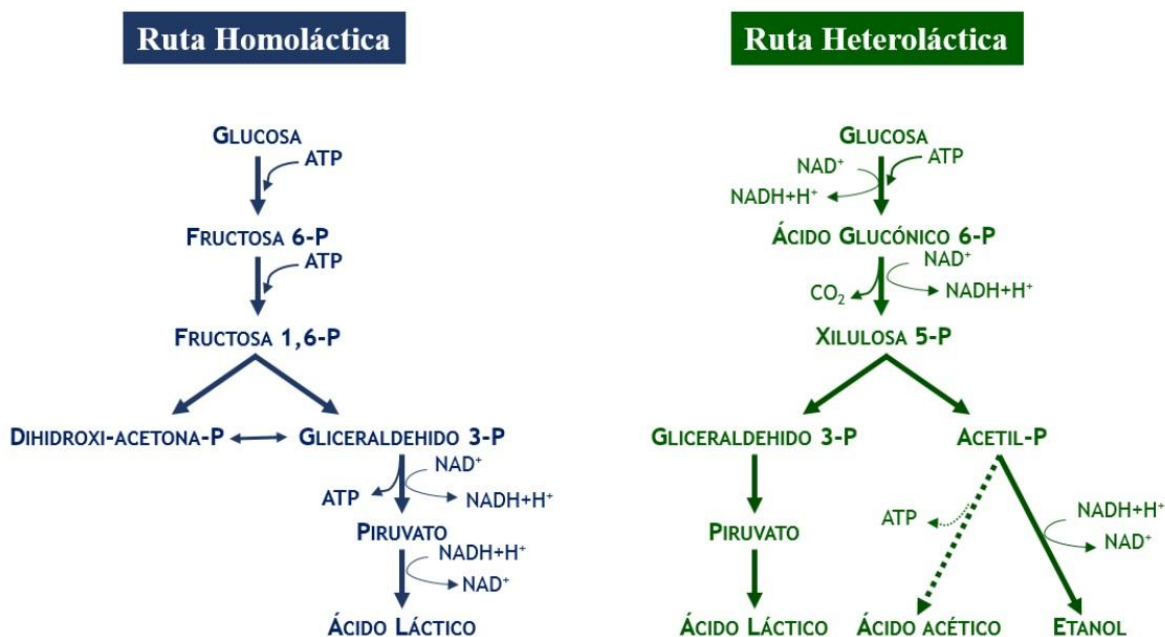


Figura 2.5. Rutas metabólicas de las bacterias productoras de ácido láctico (Torres Pascual, 2019).

2.2.5 Biomasa proteica

El rápido aumento de la población mundial ha traído consigo el incremento de las necesidades alimentarias, particularmente de aquellos alimentos con alto contenido proteico, por lo que desde la década de los 50's se han explorado nuevas fuentes de proteínas, así se ha estudiado la producción de biomasa proteica (BP) a partir de bacterias, levaduras, hongos y microalgas (Suman *et al.*, 2015). La BP se refiere a células muertas o secas de microorganismos unicelulares, y que son recuperadas de cultivos puros, ésta se caracteriza por un alto contenido de proteínas (60-82%) y otros nutrientes como vitaminas, carbohidratos, minerales, ácidos nucleicos y lípidos (Kamal *et al.*, 2019)

La BP tiene varias ventajas respecto a las fuentes convencionales de proteínas, tales como, la independencia de las variaciones estacionales y climáticas, por lo que puede producirse a lo largo de todo el año, además, no se necesita de grandes extensiones de tierra y agua para su producción (Sharif *et al.*, 2021). El contenido de proteínas depende del microorganismo utilizado, las condiciones de crecimiento del mismo y el sustrato utilizado, sin embargo, se puede esperar que la BP producida a partir de bacterias tenga un contenido de proteínas de 50-80% y de 20-60% para la producida por levaduras (Molfetta *et al.*, 2022).

Los sustratos para la producción de BP son variados, se puede hacer uso de almidón, melazas, residuos de frutas y verduras, así como de sustratos no convencionales como subproductos petroleros, gas natural, etanol, metanol y biomasa lignocelulósica, sin embargo, los sustratos con alto contenido de carbohidratos son los más utilizados, por el hecho de que estos componentes son un sustrato natural para los microorganismos y constituyen una materia prima renovable (Suman *et al.*, 2015).

2.3 Modelos cinéticos de crecimiento microbiano en la fermentación

2.3.1 Fases del crecimiento microbiano

Se dice que una población de microorganismos está creciendo cuando hay un aumento en el número total de células de esa población. Las BAL experimentan las cuatro etapas de crecimiento (latencia, exponencial, estacionaria y muerte) durante el proceso de fermentación anaeróbica (Fig. 2.6) (Madigan *et al.*, 2015):

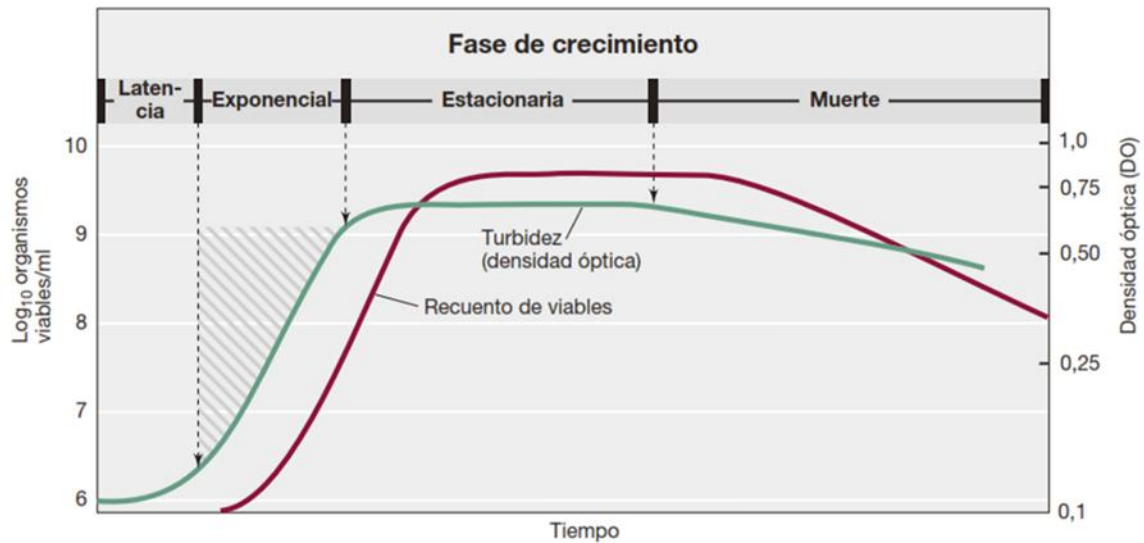


Figura 2.6. Curva típica de crecimiento microbiano (Madigan *et al.*, 2015).

Fase de latencia: es la fase de adaptación inicial, y en esta etapa las células no aumentan ni se dividen significativamente en número, en su lugar sintetizan enzimas y compuestos esenciales para prepararse para la división. Cuando se utilizan residuos, esta fase puede ser más larga ya que los microorganismos deben adaptarse a las nuevas fuentes de carbono, así como a condiciones estresantes del medio.

Fase exponencial o de crecimiento logarítmico: es la fase de máxima división celular, y durante la cual la población crece a una velocidad constante y máxima ($\mu_{\max}$) determinada por la composición del medio y las condiciones ambientales. En esta etapa se define la productividad inicial del proceso y es donde ocurre la mayor tasa de consumo de sustrato y producción de ácido láctico.

Fase estacionaria: Dado que tanto la acumulación de sustancias químicas que inhiben los microorganismos como la falta de nutrientes básicos impiden el crecimiento, la tasa de crecimiento de la población es igual a la tasa de mortalidad celular. Esto se debe a que el crecimiento se detiene cuando los nutrientes esenciales son limitados. En este punto del proceso, se ha obtenido la mayor concentración posible de ácido láctico y biomasa.

Fase de muerte: la tasa de muerte celular es mayor a la tasa de crecimiento, y la población viable disminuye debido a la falta de sustrato y la alta concentración de metabolitos tóxicos. Si se quiere que el proceso tenga un rendimiento adecuado se debe evitar llegar a esta fase.

2.3.2 Modelos cinéticos

El modelado se ha convertido en una herramienta importante para entender la dinámica del crecimiento microbiano en el contexto de la microbiología aplicada y en relación con procesos tales como la producción segura de alimentos, el tratamiento de aguas residuales, la biorremediación o la minería mediada por microbios (Esser *et al.*, 2015). Los modelos matemáticos, como aproximaciones de la realidad, pueden representar claramente procesos de fermentación cuya complejidad intrínseca excede la comprensión intuitiva, proporcionando así una visión indispensable para diseñar, controlar y optimizar el proceso, así como para minimizar la experimentación innecesaria (Du *et al.*, 2022).

Se utilizan tres grupos diferentes de expresiones para presentar modelos matemáticos: en los dos primeros grupos hay ecuaciones que se basan en el concepto de una determinada tasa de crecimiento, por lo tanto, las expresiones de la tasa de crecimiento específica del primer grupo no dependen de la concentración del sustrato, mientras que en el segundo grupo sí dependen de la concentración del sustrato, mientras que las expresiones que entran en la tercera categoría son aquellas que incorporan los conceptos de tasa de consumo de sustrato particular y tasa de formación de producto específica junto con la tasa de crecimiento específica (Gordeeva *et al.*, 2017).

Existen diferentes expresiones para modelar el crecimiento microbiano entre las que se encuentran la ecuación Logística, el modelo de Monod, el modelo de Moser, el modelo de Teissier, el modelo de Haldane, el modelo de Contois, el modelo de Amrane y Prigent, el modelo de Gompertz y el modelo de Powell (Calderón Vargas, 2017). Entre estos, el modelo de Gompertz es el más utilizado en el área de biología, para describir el crecimiento de plantas, animales, bacterias, así como el volumen de células cancerosas; este modelo tiene diferentes parametrizaciones, lo cual ha permitido su aplicación en áreas distintas a la biología, como, por ejemplo, economía y sociología (Tjørve & Tjørve, 2017).

2.3.3 Modelo de Gompertz de 4 parámetros

Cuando se realiza el análisis de crecimiento microbiano, es común utilizar el modelo de Gompertz de 4 parámetros. Este modelo es una extensión del modelo de Gompertz original, y permite un ajuste más amplio para describir curvas de crecimiento sigmoidal (Tjørve & Tjørve, 2017). Este modelo se representa por la ecuación 2.1:

$$y = b + (a - b)\exp(-\exp(-K(t - T_i))) \quad (2.1)$$

Donde b representa el valor o tamaño de la población al inicio del proceso, a representa el tamaño máximo de la población, K es el coeficiente de tasa de crecimiento y T_i describe el tiempo de inflexión donde la velocidad de crecimiento es máxima.

2.4 Aplicación de bioinsumos en el desarrollo de especies agrícolas

Los nutrientes en los suelos son de vital importancia para la producción eficiente de cultivos y alimentos que satisfagan las necesidades de una población en constante crecimiento, para esto, es necesario que la calidad del suelo sea la mejor, sin embargo, en países en desarrollo este parámetro es muy bajo, siendo necesario realizar la aplicación de fertilizantes químicos, la cual se ha hecho de forma desmedida, provocando la contaminación de suelos y agua (Ataei *et al.*, 2022).

Otro aspecto importante para aumentar la producción y calidad de las cosechas, es el uso de pesticidas, sin éstos, se tendrían pérdidas por arriba del 40% en cultivos de frutas, vegetales y cereales, sin embargo, el uso excesivo ha provocado el incremento en la contaminación de suelos y cuerpos de agua, problemas de salud y la disminución de la población de insectos benéficos como las abejas (Zhang, 2018). Así, en los últimos años, se han realizado estudios enfocados en la producción agrícola económica, socialmente responsable y con un bajo o nulo impacto al medio ambiente; para esto se ha propuesto la aplicación de bioinsumos (Mamani & Filippone, 2018).

2.4.1 Bioinsumos agrícolas

Los bioinsumos agrícolas son productos biológicos desarrollados a partir de enzimas, extractos de microorganismos y plantas, microorganismos y macroorganismos (invertebrados) y metabolitos secundarios, que están destinados al control biológico, la nutrición y el alivio del estrés abiótico y biótico, y que tienen como objetivo mejorar la productividad agrícola sin comprometer la salud ambiental (Kaushik *et al.*, 2019). Dependiendo de su efecto en la planta, los bioinsumos se clasifican de acuerdo a los mostrados en la Figura 2.7.

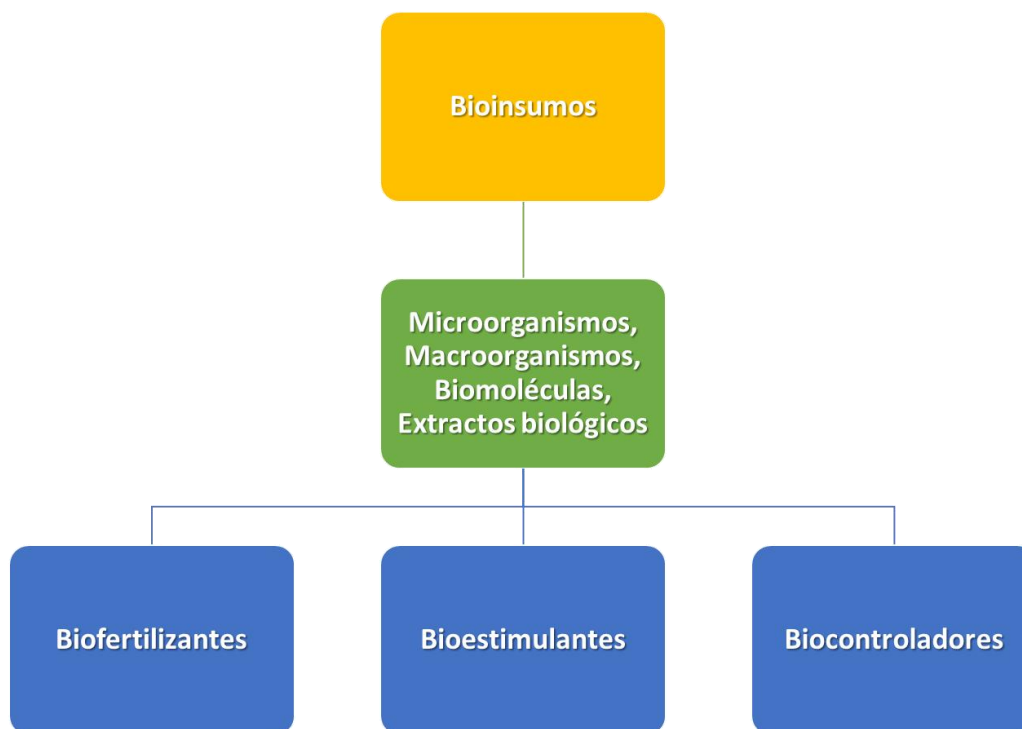


Figura 2.7. Tipos de bioinsumos utilizados en agricultura (Rosales-Castillo *et al.*, 2025).

El deterioro del equilibrio ecológico por el uso excesivo de fertilizantes químicos ha llevado a buscar alternativas de una fertilización sustentable y con un impacto ambiental mínimo, entre las que se encuentran los biofertilizantes (Chew *et al.*, 2019). Éstos se definen como compuestos orgánicos que contiene micronutrientes y microorganismos como bacterias, cianobacterias, hongos y algas que son benéficos para el suelo y el crecimiento de las plantas (Kiruba & Saeid, 2022).

Los bioestimulantes, por otro lado, son sustancias químicas y/o microorganismos que, cuando se aplican a las plantas o a la rizosfera, promueven procesos naturales para aumentar la absorción de nutrientes, la eficiencia de los nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la calidad de los cultivos, además de estimular los procesos naturales con el fin de mejorar la calidad de los cultivos (Vanajothi *et al.*, 2022), de igual forma en años recientes los bioestimulantes se han utilizado con éxito para mejorar la producción de cultivos afectados por el cambio climático (Jiménez *et al.* 2023). A pesar de no existir una categorización detallada de los bioestimulantes, algunas categorías han sido aceptadas por científicos y organismos interesados, y en las cuales se incluyen tanto sustancias como microorganismos, principalmente bacterias benéficas y hongos (Du Jardin, 2015).

En cuanto a los biocontroladores, estos productos surgen como una opción sustentable para reemplazar los pesticidas sintéticos y minimizar su impacto negativo a la salud humana y medio ambiente (Villavicencio-Vásquez *et al.*, 2025). Los microorganismos presentes en los bioinsumos utilizados como biocontroladores emplean diferentes mecanismos para proteger las plantas, incluidos la competencia de nutrientes, la producción de metabolitos con efecto antibiótico, la inducción de resistencia sistémica en plantas y competencia por el espacio en el suelo (Prasad *et al.*, 2023).

2.4.2 Aplicación de fermentos ácido lácticos en especies agrícolas

Los fermentos obtenidos del proceso de fermentación anaerobia son una opción para su aprovechamiento en el sector agrícola. Los fermentos que contienen BAL se han utilizado por décadas en los sistemas agrícolas para el mejoramiento de suelos, controlar enfermedades y promover el crecimiento de plantas, no obstante, aún no se ha descubierto la relación simbiótica entre las plantas y las BAL para poder optimizar la producción agrícola (Lamont *et al.*, 2017).

Las BAL también son microorganismos que se encuentran presentes en el suelo y que se desplazan fácilmente de la rizosfera y filosfera a la endosfera de varias plantas, por lo que sus beneficios se han demostrado a través de diferentes estudios como la estimulación de la germinación de tomate por inmersión de sus semillas en *Lactobacillus plantarum*, el uso de BAL aisladas de frutas y vegetales como biocontrol de bacterias patógenas y hongos, y la aplicación como biofertilizante para mejorar la calidad nutricional de frutas (Viscardi *et al.*, 2020).

Además, los metabolitos secundarios producidos por las BAL no son utilizados para su crecimiento, siendo su principal función la de acondicionar el entorno para que sea más apto para su desarrollo, varios de estos metabolitos tienen características antifúngicas, entre los que se encuentran ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, reuterina, ácidos grasos y péptidos cíclicos (Bergsma *et al.*, 2022).

A pesar de las múltiples ventajas que tienen las BAL y sus fermentos, aún existen limitaciones como la formulación y su eficiencia, sin una adecuada formulación la población de los microorganismos disminuye después aplicarlos al suelo, este factor y la baja

producción de biomasa limita la actividad en la rizosfera, además de competir con los microorganismos nativos y resistir la depredación de la microfauna (Pellegrini *et al.*, 2020).

2.5 Cultivo de caña de azúcar (*S. officinarum*)

2.5.1 Generalidades del cultivo

El cultivo de caña de azúcar se cultiva predominantemente en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, se caracteriza principalmente por su capacidad para almacenar altas concentraciones de sacarosa o azúcar en el tallo; el manejo agronómico de este cultivo requiere una enorme mano de obra, que se encarece en todo su proceso de cultivo (Singh *et al.*, 2025). Veracruz es el estado mexicano con mayor volumen de producción y mayor número de ingenios azucareros, lo que lo convierte en el mayor productor de los 15 estados mexicanos dedicados al cultivo de la caña de azúcar. (CONADESUCA, 2015a).

El cultivo de caña de azúcar desde la siembra a la cosecha tiene un ciclo variable de desarrollo vegetativo, que oscila entre 14 y 17 meses, y durante este periodo pasa por cuatro etapas: germinación, amacollamiento, rápido crecimiento y maduración (Fig. 2.8), mientras que el segundo corte de caña se desarrolla a lo largo de once a trece meses, y se produce en tres etapas: la etapa de brotación y macollamiento, la etapa de crecimiento rápido y la etapa de maduración. (Ochoa *et al.*, 2010).

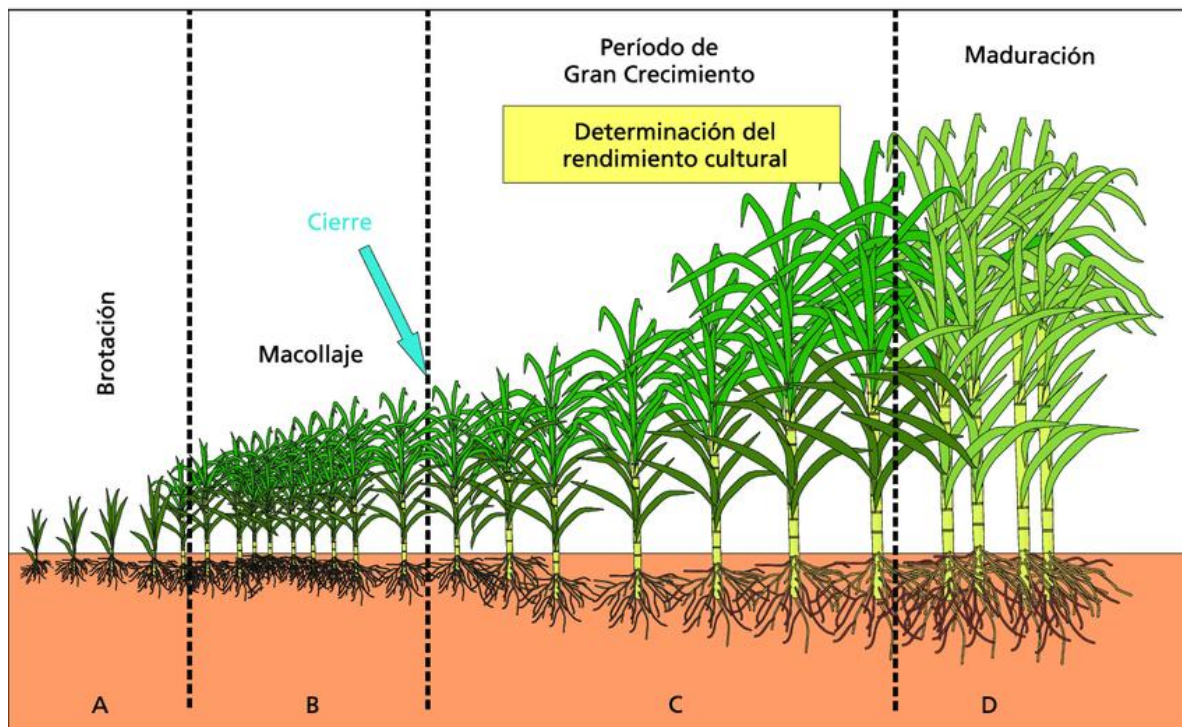


Figura 2.8. Etapas fenológicas del cultivo de caña de azúcar (Romero *et al.*, 2009).

La caña de azúcar es un cultivo altamente extractor de nutrientes del suelo, debido a su elevada capacidad de generación de biomasa, además de que su ciclo de producción es largo, y por lo tanto requiere dosis considerables de fertilización de macro y micronutrientes, la cual se encuentra entre 800 a 1500 kg/ha por año, sobresaliendo el potasio y silicio, seguidos de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes (CONADESUCA, 2015b).

El cultivo de caña de azúcar se puede sembrar desde el nivel del mar hasta los 1800 msnm, siendo la altitud más recomendable la que oscila entre 900 y 1600 msnm (López Lopera, 2015). También es un cultivo que difiere de otros en cuanto a sus exigencias de humedad y temperatura, requiriendo en promedio de 1500 mm de precipitación por año; en las etapas iniciales se requiere de un contenido de humedad adecuado (alrededor del 80%), temperaturas cálidas (26 a 30°C), así como una adecuada luminosidad, para favorecer el crecimiento vegetativo, en tanto que en la etapa de maduración, se requieren temperaturas bajas y un ambiente menos húmedo (<65%), lo cual es necesario para tener una mejor calidad de jugo, con mayor contenido de sacarosa (CONADESUCA, 2015a; Sieiro-Miranda *et al.*, 2015).

2.5.2 Aplicación de bioinsumos en el cultivo de caña de azúcar

Existen diversos estudios en los que se ha realizado la aplicación de bioinsumos para mejorar la productividad del cultivo de caña de azúcar. Así, Morales *et al.*, (2021) evaluaron el uso de insumos agrícolas de origen biológico (bacteria *Azospirillum brasilense* y consorcio de hongos micorrícicos) con el objetivo de reducir el uso de agroquímicos, su impacto al suelo y cuerpos de agua, así como la contaminación atmosférica; se demostró que el sistema de producción aplicado estimula la recuperación y regeneración de las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas del suelo.

Sánchez-Ramón *et al.*, (2024) llevaron a cabo una investigación sobre la eficacia de los fertilizantes sintéticos y biológicos en el crecimiento y la producción de biomasa de la caña de azúcar, y llegaron a la conclusión de que no hay diferencias significativas entre los distintos tipos de fertilizantes. Por esta razón, el uso de fertilizantes biológicos podría servir como alternativa para los productores de caña de azúcar y contribuir a la transición del cultivo hacia un sistema agrícola agroecológico.

Por otra parte, Velasco-Velasco (2014) realizó la descripción del uso reciente y potencial de biofertilizantes para la producción de caña de azúcar con el fin de reducir el uso de fertilización química y tener un sistema de producción más sostenible; los microorganismos que se describen en el estudio son principalmente bacterias fijadoras de nitrógeno como *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter sp.* y *Acetobacter diazotrophicus*, y especies que realizan un efecto de biocontrol y biofertilizante como *Pseudomonas*, hongos micorrícicos y microorganismos nativos de la rizosfera.

2.6 Cultivo de chile habanero (*C. chinense*)

2.6.1 Generalidades del cultivo

El género *Capsicum* es nativo del neotrópico e incluye cinco especies domesticadas de pimientos, entre estos se encuentra el chile habanero (*Capsicum chinense*), la cual es conocida por ser una de las especies más picantes del mundo, esta especie tiene su origen en América del Sur, específicamente en la cuenca del Amazonas, posteriormente se dispersó a las islas del Caribe y más tarde a la Península de Yucatán en el sureste de México (Valdovinos-Nava *et al.*, 2020).

Además de alcanzar una altura de 1,5 metros, el chile habanero es una planta anual que puede vivir hasta dieciséis meses, tiene una raíz pivotante, también tiene un sistema radicular bien desarrollado, cuyo tamaño viene determinado por la edad de la planta; tiende a crear tres tallos en la rama inicial, y su tallo es robusto y erguido; las hojas son sencillas, lisas y alternas; cada axila contiene una media de seis frutos, cuyo tamaño oscila entre los dos y los seis centímetros, y las flores son todas blancas; los frutos son verdes cuando son jóvenes, pero cuando maduran pueden ser naranjas, amarillos o rojas, además, tienen un sabor muy picante y fragante (Fig. 2.9) (López-Puc *et al.*, 2020).

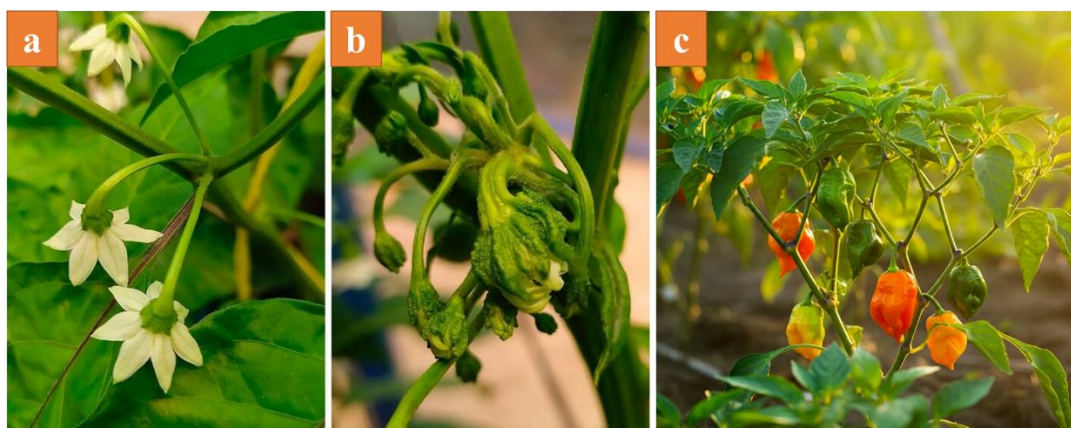


Figura 2.9. Elementos de una planta de chile habanero: a) flores, b) frutos y c) planta con frutos.

Al ser una planta de clima cálido, el chile habanero crece normalmente en temperaturas que oscilan entre un mínimo de 10 °C y un máximo de 35 °C, siendo la temperatura ideal de 30 °C; las mejores condiciones para el cultivo del chile habanero se dan en regiones subtropicales templadas, a altitudes que oscilan entre 0 y 2700 msnm; el rango óptimo de precipitaciones es de entre 600 y 1250 mm; la germinación se produce a temperaturas que oscilan entre los 18 y 35 °C (Villa-Castorena *et al.*, 2014).

El requerimiento de nutrientes que se recomienda por ciclo de cultivo de chile habanero es 125 kg de N, 100 kg de P y 150 kg de K, esto para obtener rendimientos promedio por hectárea de 18 t en suelos pedregosos o rojos (0.9 kg/planta); las formas de aplicación de los fertilizantes pueden ser: al suelo, foliar, fertirriego e hidropónico (Vargas Loeza, 2017).

2.6.2 Aplicación de bioinsumos en el cultivo de chile habanero

La aplicación de bioinsumos en el cultivo de chile habanero es una temática que ha tomado fuerza en años recientes. Valdovinos-Nava *et al.*, (2020) evaluaron el efecto de la aplicación de un consorcio microbiano en el crecimiento de planta, nutrición y calidad de fruto de *C. chinense* bajo condiciones de invernadero, y los resultados mostraron un incremento en la altura de la planta y diámetro de tallo, así mismo, se incrementó el número de flores y frutos por planta. Los consorcios microbianos aplicados fueron Bonasol (*Azotobacter* sp., *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, y *Rhizophagus intraradices*) y Lilasol (*Bacillus popilliae*, *Bacillus thuringiensis*, y *Purpureocillium lilacinum*)

Murillo-Cuevas *et al.*, (2021) realizaron un estudio diferente en el que aplicaron tres bioestimulantes microbianos distintos a chiles habaneros y evaluaron su efecto en las semillas, las plántulas y la calidad del fruto de los chiles, encontraron que no había diferencias significativas en la germinación de las semillas, pero sí las había en la altura de las plántulas y su peso seco veinte días después de la incorporación, en cuanto al tamaño y el peso de los frutos, las plantas tratadas con bioestimulantes produjeron frutos más grandes y pesados que las plantas que sirvieron de control.. Los bioestimulantes aplicados fueron T22+micorriza INIFAQ (*Trichoderma harzianum* + micorriza), MIX (*T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. koningli*) y Genifix (*Bacillus* sp. JVN5, *B. megaterium* strain VVM1, *Bacillus* sp. FDMC4, *B. subtilis* strain JAG3, *B. megaterium* strain EAV2).

Mejía-Bautista *et al.*, (2022) evaluaron el efecto de 11 cepas del género de *Bacillus* para solubilizar fosfato de calcio, producir ácido indolacético, sideróforos y actividad ACC desanimasa en el cultivo de chile habanero. Los resultados mostraron que la cepa *B. subtilis* CBMT51 tuvo efecto en la promoción del crecimiento de las plántulas de *C. chinense* y aumentó el número de frutos y rendimiento del cultivo, en tanto que la cepa de *B. subtilis* CMBMT2 incrementó el crecimiento y desarrollo de las plantas.

2.7 Economía Circular

2.7.1 Fundamentos

Desde hace varias décadas se plantearon las primeras ideas relacionadas con el concepto de un flujo circular de materiales en un proceso. Una de las definiciones más reconocidas para economía circular es la propuesta por MacArthur (2013): El término “Economía Circular” (EC) hace referencia a un sistema económico diseñado para ser restaurador y regenerativo, su objetivo principal es garantizar que los productos, componentes y materiales se encuentren siempre en el estado más útil y valioso posible, al tiempo que se distingue entre ciclos biológicos y técnicos. Al definir la EC se hace referencia a una economía de ciclo cerrado, que no genera residuos en exceso, y en la cual cualquier residuo se convierte en un recurso (Geinsendorf & Pietrulla, 2017).

El concepto de EC se basa en tres principios, basados en el diseño de productos y sistemas: 1. Eliminar residuos y contaminación desde el diseño, 2. Circular productos y materiales en su máximo valor (reutilización, reparación, remanufactura y reciclaje) y 3. Regenerar sistemas naturales (distinción entre ciclos biológicos y técnicos) (MacArthur, 2013). Aunque siempre se han mencionado las 3R (Reducir, Reutilizar y Reciclar) como base del sistema de EC, el enfoque ha evolucionado a jerarquías más complejas, como las 9R (Repensar, Reducir, Reutilizar, Reparar, Restaurar, Remanufacturar, Reconvertir, Reciclar y Recuperar), donde las acciones ubicadas al inicio de la cadena (Repensar y Reducir) poseen el mayor impacto potencial sobre la sostenibilidad (Sarango *et al.*, 2024).

La implementación de la EC se justifica por sus impactos positivos en la economía, medio ambiente y sociedad. Se estima que la EC genera oportunidades de innovación, reducción de costos de operación y la creación de nuevos modelos de negocios, lo cual impacta en el crecimiento del producto interno bruto; en el aspecto ambiental contribuye a la mitigación del cambio climático al reducir la emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación y la generación de residuos sólidos; mientras que en el ámbito social fomenta la creación de empleos en áreas como la reparación, remanufactura y gestión de recursos (Korhonen *et al.*, 2018).

La EC se basa en diferentes escuelas de pensamiento que en su momento cuestionaron la viabilidad del modelo lineal de producción. Un resumen de estas aportaciones se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Aportaciones al concepto de Economía Circular (Ugalde-Hernández, 2021).

Escuela de pensamiento	Autor(es) clave	Aportación a la EC
Economía de rendimiento	Walter R. Stahel (1976; 2006)	Impulsó la extensión de la vida útil de los productos y desarrolló el concepto de "producto como servicio," donde el valor se mantiene en el ciclo.
Ecología industrial	Frosch & Gallopoulos (1989); Graedel & Allenby (1995)	Propone modelar los sistemas industriales como ecosistemas naturales, donde el residuo de una industria se convierte en el insumo de otra (simbiosis industrial).
Cuna a cuna (Cradle to Cradle - C2C)	William McDonough & Michael Braungart (2002)	Distingue rigurosamente entre el ciclo biológico (nutrientes que vuelven a la biosfera) y el ciclo técnico (materiales de alto rendimiento que circulan sin perder calidad), eliminando los tóxicos y los materiales malos.
Economía de la dona (Doughnut Economics)	Kate Raworth (2012)	Sirve como guía de prosperidad, estableciendo un entorno seguro y equitativo para toda la humanidad que opera entre una base social (sin carencias) y un techo ecológico (límites planetarios)
Acuñación del término	David W. Pearce & R. Kerry Turner (1990)	En su artículo titulado "Economics of Natural Resources and the Environment", se les considera a menudo como los primeros en introducir formalmente el término "Economía Circular".

2.7.1 Economía circular para el aprovechamiento de residuos agroindustriales

Previamente se ha descrito que la EC busca aprovechar al máximo los recursos en cualquier proceso productivo. Dentro de estos procesos, la agroindustria es un sector que genera una gran cantidad de residuos y subproductos, los cuales debido a su mal manejo y disposición tienen un impacto negativo al medio ambiente, y a la economía por los altos costos que representa su manejo (Galaviz-Villa *et al.*, 2020).

La aplicación de la EC para el aprovechamiento de los residuos de la producción agrícola e industrial se maneja bajo el concepto de bioeconomía circular, la cual se define como la economía que emplea el uso de recursos renovables para la producción de energía, alimentos y productos básicos de importancia industrial mediante la aplicación de diversos procesos biológicos, cumpliendo con las leyes y políticas vigentes (Kumar Sarangi *et al.*, 2023).

Una interpretación es que se trata de un marco para reducir la dependencia de los recursos naturales, transformar la industria manufacturera, promover la producción sostenible de recursos renovables procedentes de la tierra, la pesca y la acuicultura, y fomentar la conversión de estos recursos en una variedad de productos biológicos y bioenergía, al tiempo que se generan nuevos empleos e industrias (Tan & Lamers, 2021). En la Figura 2.10 se muestran las diferentes etapas de la cadena de producción donde se generan residuos agroindustriales, así como sus potenciales aplicaciones.



Figura 2.10. Generación de residuos agroindustriales y aplicaciones potenciales (Salazar-López *et al.*, 2023).

Existen diferentes estudios que han planteado la aplicación de la EC para la valorización de residuos agroindustriales. Molina-Morejón *et al.*, (2025) analizaron la gestión de residuos de establos lecheros para la producción de bioenergía y abono orgánico, y compararon el proceso con el diagrama de mariposa de Ellen MacArthur; el estudio concluye que es necesario complementar la bioeconomía con estudios económicos, en particular con el diseño de procesos eficientes para la recolección de residuos valiosos basados en una cadena de suministro que no solo agilice la recolección de residuos, sino que también garantice procesos de producción y distribución eficientes.

Respecto a la agroindustria piloncillera existen pocos trabajos relacionados con la aplicación de la EC, sin embargo, existen estudios que discuten la aplicación de este modelo a la agroindustria azucarera con la cual comparte similitudes. Aita *et al.*, (2024) discuten el potencial de los residuos de la agroindustria azucarera (residuos de cultivo, bagazo, melaza, cachaza y cenizas de calderas) para la generación de productos de valor agregado, con lo cual estos residuos se reincorporan al ciclo de producción permitiendo la sostenibilidad de la industria; también se señalan los posibles obstáculos para la implementación exitosa de la EC, como los desafíos en la logística, el transporte eficiente de grandes volúmenes de biomasa (como el bagazo) y la necesidad de desarrollar cadenas de valor rentables alrededor de estos nuevos productos.

Capítulo 3. Metodología

En la Figura 3.1 se muestra el esquema de la metodología que se llevó a cabo para el desarrollo del presente trabajo. Se describen los pasos para la obtención, caracterización y acondicionamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera, las condiciones de operación del proceso de fermentación anaerobia utilizando los microorganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* LA-3 y *Bacillus subtilis* QS-713, y posteriormente el aprovechamiento de los fermentos como bioestimulantes en los cultivos de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y chile habanero (*Capsicum chinense*).

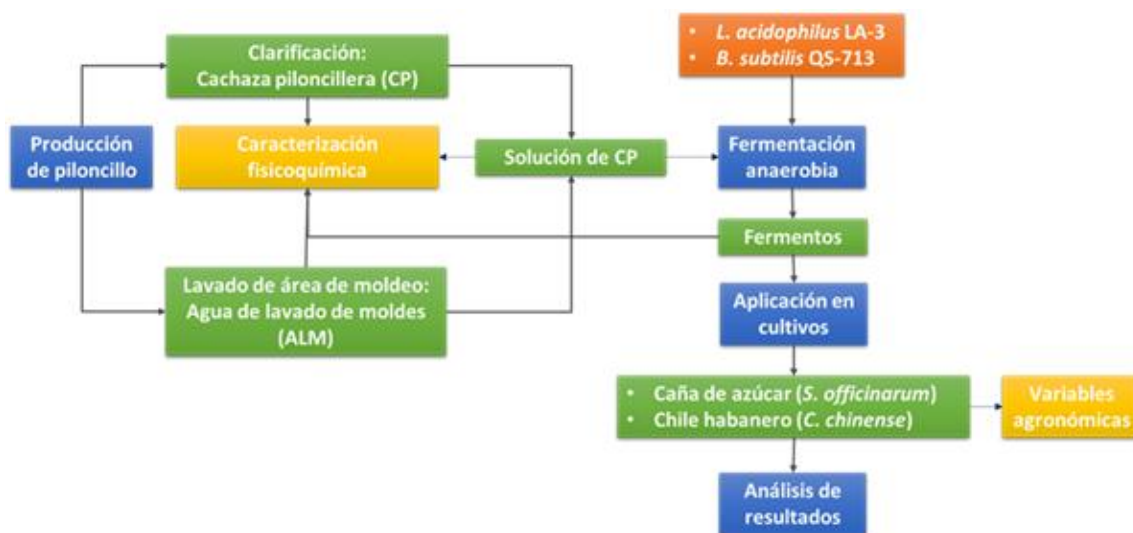


Figura 3.1. Esquema general de la metodología experimental.

3.1 Obtención y caracterización de los residuos de la agroindustria piloncillera

La CP y el ALM se recolectaron de una planta de producción (trapiche) ubicado en la localidad de Zentla (19°05'24.9"N 96°48'04.3"W), municipio de Zentla, Veracruz (Fig. 3.2), enseguida se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su uso.



Figura 3.2. Sitios de muestreo de los residuos de la agroindustria piloncillera a) CP y b) ALM.

Para la caracterización fisicoquímica, en la Tabla 3.1 se describen los parámetros caracterizados, las unidades y los métodos aplicados.

Tabla 3.1. Parámetros para la caracterización de los residuos de la agroindustria piloncillera.

Parámetro [Unidad]	Método	Referencia
pH [---]	Potenciométrico	Potenciométrico
Sólidos totales [%]	Método estándar 2540G	APHA-WPCF-AWWA.
Sólidos totales volátiles [%]	Método estándar 2540G	APHA-WPCF-AWWA.
Carbohidratos [g/L]	Antrona- sulfúrico	López-Legarda <i>et al.</i> , (2017)
Nitrógeno total [%]	Micro Kjeldahl	Mæhre <i>et al.</i> , (2018)
Proteínas [%]	Micro Kjeldahl	

3.1.1 Determinación de pH, sólidos totales y sólidos totales volátiles

El pH se midió utilizando un potenciómetro (Science Med modelo SM-3BW), previamente calibrado con soluciones buffer 4, 7 y 11. Los sólidos totales (ST) se definen como el material residual después de la evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura. Para determinar este parámetro se llevaron las muestras a evaporación en una estufa de calentamiento, de acuerdo a lo que indica el método estándar 2540 G de la APHA-WPCF-AWWA. Se tomaron aproximadamente 3 mL de muestra y se depositaron en un crisol

previamente llevado a peso constante, para luego introducirse en una estufa a una temperatura de 103-105°C por un lapso de 24 h. El cálculo se realizó con la ecuación 3.1:

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

Donde:

P_1 = Peso del crisol a peso constante

P_2 = Peso de la muestra antes de la evaporación (sin considerar el peso del crisol)

P_3 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra seca

Los sólidos totales volátiles (STV) se determinaron utilizando el mismo método estándar. La muestra seca obtenida durante la medición de los ST se llevó a calcinación en una mufla a 550°C durante 2 h y el cálculo se hizo con la ecuación 3.2:

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

Donde:

P_4 = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada

3.1.2 Determinación de Carbohidratos

La concentración de carbohidratos se realizó por el método de antrona-sulfúrico de acuerdo a lo descrito por López-Legarda *et al.*, (2017). Esta solución se prepara al momento de su uso, para lo cual se diluye 1 g de antrona en polvo en 760 mL de ácido sulfúrico concentrado, para posteriormente aforar a 1L con agua destilada. Durante la preparación el matraz se cubrió para evitar la degradación de la solución por efecto de la luz, así mismo, el aforo con agua destilada se debe realizar lentamente ya que la reacción es exotérmica y la solución se puede degradar por efecto de la temperatura, por lo cual la preparación se debe realizar en un baño de hielo. Una vez preparada la solución, esta se almacenó en un frasco ámbar en refrigeración a 4°C hasta su uso.

Se preparó una curva patrón a partir de una solución de glucosa con concentración de 1 g/L, para obtener concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 g/L (Tabla 3.2). De cada dilución se tomaron 0.5 mL y se colocaron en tubos de ensayo, a los cuales se adicionaron 2 mL de la

solución antrona-sulfúrico previamente preparada. Se taparon los tubos y se agitaron, para después llevar a calentamiento durante 12 min a 94 °C. Se dejaron enfriar antes de leer en el espectrofotómetro Genesys 20 a longitud de onda de 620 nm.

Tabla 3.2. Diluciones de la solución de glucosa 1 g/L para la obtención de la curva de calibración.

Concentración deseada [g/L]	Volumen de solución [mL]	Aforar con agua destilada a:
0.1	2.5	25 mL
0.2	5.0	
0.3	7.5	
0.4	10.0	
0.5	12.5	

Una vez realizada la curva de calibración, los valores de absorbancia se ajustaron a la ecuación de la recta ($y = mx + b$). Se despejó la variable x que corresponde a la concentración de carbohidratos expresada en g/L, para finalmente multiplicar por el factor de dilución establecido para cada muestra. El procedimiento se repitió cada vez que se preparaba la solución de antrona-sulfúrico.

La muestra del residuo se debe diluir adecuadamente para poder realizar la medición de los carbohidratos. En el caso de la CP la dilución se realizó en una relación 1:400, mientras que para el ALM fue de 1:25. Enseguida, de cada residuo diluido se tomaron 0.5 mL y se añadieron a un tubo de ensayo, y posteriormente se le añadieron 2 mL de la solución de antrona-sulfúrico, y se llevaron a calentamiento a 94°C durante 12 min. Finalmente, las muestras se dejaron enfriar para leer la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Genesys 20 a una longitud de onda de 620 nm.

3.1.3 Determinación de nitrógeno total y proteínas

El contenido de nitrógeno total se realizó por el método Micro Kjeldahl (Mæhre *et al.*, (2018). Se pesaron entre 30 a 50 mg de muestra y se colocaron en un matraz Kjeldahl; al matraz se adicionaron 0.3 g de sulfato de cobre, 0.5 g de sulfato de potasio, una pequeña cantidad de selenio en polvo y de 3 a 4 mL de ácido sulfúrico concentrado. El matraz se colocó en una parrilla de digestión, y se hasta que la muestra tomó una coloración verde claro, y se dejan enfriar.

Una vez concluida la digestión, la muestra se lleva al destilador Micro Kjeldahl, en donde se agregó hidróxido de sodio al 40% hasta que la muestra cambia a color marrón (10 a 40 mL dependiendo del contenido de nitrógeno). El destilado se recibió en un vaso de precipitados con 10 mL de ácido bórico al 4% y 2 gotas de indicador azul-rojo de metilo, sumergido en baño de hielo. Es importante mantener la salida del refrigerante sumergida en la solución de ácido bórico.

Se terminó de recibir el destilado cuando cambió a un tono verde claro o hasta tener 30 mL de solución en el vaso de precipitados. Esta solución se tituló con ácido sulfúrico 0.02 N hasta cambio de color a rosa claro. Finalmente, se calculó el porcentaje de nitrógeno total y de proteínas utilizando la ecuación 3.3:

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

Donde:

G = mL de solución de ácido sulfúrico gastados en la titulación

N = Normalidad de la solución de ácido sulfúrico utilizada para titular

M = Peso de la muestra en gramos

El valor de 0.014 corresponde a los miliequivalentes de nitrógeno

Para la medición del contenido de proteínas, el valor obtenido de nitrógeno total se multiplicó por 6.25 (factor de conversión) de acuerdo a la ecuación 3.4:

$$\% P = \% N \cdot 6.25 \quad (3.4)$$

Donde:

%N = Porcentaje nitrógeno total contenido en la muestra

3.2 Fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera

3.2.1 Acondicionamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera

A partir de los residuos se prepararon soluciones con diferente concentración de CP: 50, 100 y 150 g CP/L, utilizando el ALM como solvente (Fig. 3.3). Las concentraciones se establecieron en base al contenido de ST, que debe encontrarse en el rango de 2 a 5% (Abid *et al.*, 2021). Estas soluciones se caracterizaron fisicoquímicamente de acuerdo a los parámetros descritos en la sección 3.1.

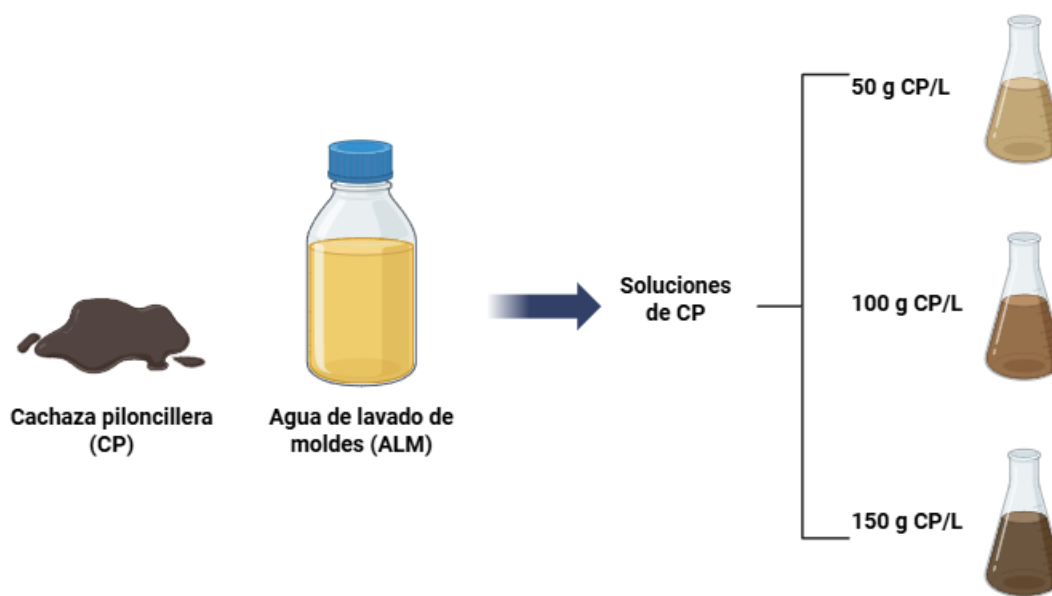


Figura 3.3. Acondicionamiento de la CP y ALM previo a las pruebas de fermentación anaerobia.

3.2.2 Propagación y acondicionamiento de las cepas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 en medio sintético

Las cepas de los microorganismos probióticos se obtuvieron de productos comerciales (Fig. 3.4). Para la propagación de la cepa de *L. acidophilus* LA-3 (Sacco System, 2024) se pesó 1 g de producto y se agregó a un matraz con 100 mL de caldo MRS previamente esterilizado a 121°C por 15 min, posteriormente la mezcla se incubó a 37±0.5°C durante 24 h.



Figura 3.4. Cepas comerciales utilizadas para llevar a cabo la fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera: a) *L. acidophilus* LA-3 y b) *B. subtilis* QS-713.

En el caso de la cepa *B. subtilis* QS-713 (Bayer, 2024), ésta se aisló del producto comercial, para ello se preparó agar MRS y se esterilizó, el medio se sirvió en cajas Petri estériles, enseguida, se realizó la siembra por estrías, tomando una pequeña muestra con un asa bacteriológica en un ambiente estéril dentro de una campana de flujo laminar, después de la siembra, las cajas Petri fueron almacenadas dentro de una estufa de cultivo a una temperatura de 37 ± 0.5 °C durante 24 horas. Cumplido el periodo de incubación, se determinó la densidad celular en cada placa por medio de la técnica descrita por Peng *et al.*, (2021) y a partir de la placa con mayor densidad celular se tomó una muestra y se agregó a un matraz con 100 mL de caldo MRS previamente esterilizado y se llevó a incubación a 37 ± 0.5 °C.

Al final de la etapa de propagación se realizó una prueba de Gram para confirmar que las bacterias fueran del género *Lactobacillus* (Fig. 3.5). Los matraces conteniendo las cepas de los microorganismos se denominaron “matraces semilla” y la densidad celular en cada uno fue de aproximadamente 8.0 ± 0.2 log UFC/mL, y se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta su uso en la fermentación.

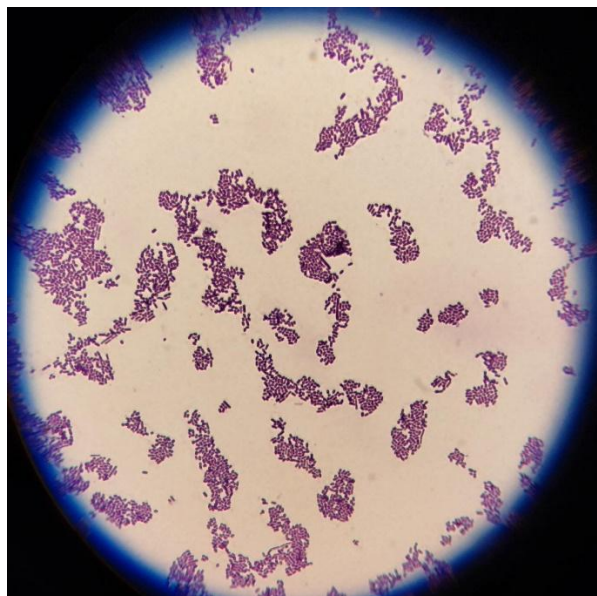


Figura 3.5. Resultado de la prueba de Gram para las cepas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

3.2.3 Cinéticas de fermentación anaerobia de las soluciones de CP

Para llevar a cabo la fermentación anaerobia de las soluciones de CP, se realizó el montaje de matraces Erlenmeyer de 250 mL, con un volumen útil de 150 mL, adicionando a cada matraz una solución de CP y 10 % v/v de inóculo de la cepa *Lactobacillus acidophilus* LA-3 (Romero-Mota *et al.*, 2023) y *Bacillus subtilis* QS-713 (Rocafuerte Peña, 2022). Los matraces fueron colocados en un agitador orbital de sobremesa (Zhicheng Instrument modelo ZHWY-100B), manteniendo una temperatura constante de $36 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y una velocidad de agitación de 120 rpm, durante 72 h y tomando muestra de 2 mL cada 4 h.

Para cada muestra se determinaron pH, carbohidratos, densidad celular, biomasa y ácido láctico. El pH y los carbohidratos se determinaron de acuerdo a las técnicas descritas en las secciones 3.1.1 y 3.1.2. La densidad celular se realizó mediante la técnica de placa vertida en agar MRS (Peng *et al.*, 2021). La biomasa se determinó al inicio y al final del proceso de fermentación por el método de peso seco (Sánchez-Valeriano *et al.*, 2022). Para la producción de ácido láctico (AL) se cuantificó de acuerdo a la metodología descrita en la norma mexicana NMX-F-716-COFOCALEC-2014 utilizando la ecuación 3.5:

$$AL \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{V \cdot N \cdot 90}{V_m} \quad (3.5)$$

Donde:

V = Volumen gastado de la solución de NaOH

N = Normalidad de la solución de NaOH

V_m = Volumen de la muestra

Para los valores obtenidos en cada determinación se realizó un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey ($p < 0.05$) para determinar si las diferencias en las mediciones realizadas fueron significativas. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Minitab 19.

3.3 Implementación de reactor a nivel laboratorio

Se realizó el escalamiento del proceso a un reactor de vidrio de 0.5 L de volumen con chaqueta de calentamiento (Fig. 3.6) a través de la que se hizo fluir agua a $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ con ayuda de un baño de calentamiento con recirculación marca Thermo Scientific. El reactor se operó a una temperatura de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, con agitación continua a 120 rpm mediante un agitador magnético y un volumen útil de 0.4 L. El inóculo se agregó en una proporción 1/10.



Figura 3.6. Reactor utilizado para el escalamiento del proceso de fermentación.

La concentración de la solución de CP que se utilizó para fermentar en el reactor se estableció en base a los resultados de las pruebas previas de fermentación anaerobia. El reactor se utilizó para la obtención de los parámetros cinéticos para cada microorganismo y la producción de los fermentos que se aplicaron como bioestimulantes en la siguiente etapa del proyecto de tesis.

3.3.1 Obtención de los parámetros cinéticos de densidad celular

Los parámetros cinéticos de densidad celular se obtuvieron utilizando el modelo de Gompertz de 4 parámetros (Tjørve & Tjørve, 2017) mediante la ecuación 3.6:

$$y = b + (a - b)\exp(-\exp(-K(t - T_i))) \quad (3.6)$$

donde:

a = densidad celular máxima (log UFC/mL)

b = densidad celular mínima (log UFC/mL)

K = coeficiente de tasa de crecimiento (g/L)

t = tiempo (h)

T_i = tiempo de máximo crecimiento (h)

Para obtener $\mu_{\max}$ se calculó el cociente K/e , y a su vez $\lambda = T_i - 1/K$, donde λ es el tiempo lag o de acondicionamiento. Para obtener los modelos no lineales, se utilizó el método de mínimos cuadrados para la solución de las ecuaciones de modelado, y el mismo método para el análisis estadístico (IC 95%, $\alpha = 0,05$). Se usó el software GraphPad Prism 8 para obtener todos los parámetros del modelo.

3.4 Evaluación de la aplicación de los fermentos en el crecimiento de plántulas de chile habanero (*C. chinense*) y caña de azúcar (*S. officinarum*)

3.4.1 Obtención y caracterización fisicoquímica de fermentos

Los fermentos de cada cepa probiótica se obtuvieron mediante la fermentación de una solución de CP con una concentración de ST menor al 10% y una concentración de carbohidratos de 50 g/L. La fermentación se realizó en el reactor descrito en la sección 3.3. Para cada uno de los fermentos se determinó el pH, ST, STV, nitrógeno total, carbohidratos

y ácido láctico mediante las técnicas descrita en la sección 3.1 y 3.2.3. Así mismo, se determinaron nitrógeno amoniacal y nitratos por espectrofotometría de luz visible mediante un espectrofotómetro HACH® DR 2500 y reactivos HACH®.

3.4.2 Preparación de sustrato

El sustrato utilizado para el desarrollo de las plántulas se preparó mezclando suelo y tepezil (roca volcánica) en una relación 1:1 (Fig. 3.7). El suelo utilizado para la preparación del sustrato fue tipo litosol, se tamizó con el fin de eliminar partículas mayores a 5 mm, y posteriormente se caracterizó fisicoquímicamente de acuerdo a la norma mexicana SEMARNAT (NOM-021-RECNAT-2000).



Figura 3.7. Preparación de sustrato para trasplante de plántulas de *C. chinense* y *S. officinarum*.

3.4.3 Producción de plántulas de *C. chinense*

Las plántulas de *C. chinense* (Fig. 3.8) se produjeron en charolas de polietileno de 200 cavidades, las cuales se llenaron con peat moss de fibra fina con vermiculita. La variedad utilizada de *C. chinense* fue Velociraptor (Lark Seeds, 2024). El riego de las charolas se realizó cada tres días y a partir de la aparición de 2 a 3 hojas, los fertilizantes orgánicos Radifarm® y Viva® (Syngenta Biologicals, 2024) se añadieron al agua de riego en concentraciones del 3 y 1% v/v respectivamente.

Se seleccionaron las plántulas con una altura mayor a 15 cm (Moreno-Salazar *et al.*, 2020) y se trasplantaron en macetas de plástico de 3 L conteniendo el sustrato previamente preparado, y se colocaron dentro de un invernadero, el cual se cubrió con velo agrícola. La separación entre macetas fue de 30 cm. Para llevar a cabo el manejo de plagas, se realizó la aplicación de un insecticida orgánico elaborado con jabón potásico, aceite de neem, y extractos de chile,

ajo, tabaco y hojas amargas, mientras que el control de malezas se realizó de forma manual, en cuanto al riego, éste se realizó cada tercer día.



Figura 3.8. Plántulas de chile habanero seleccionadas para la aplicación de fermentos.

3.4.4 Pruebas de toxicidad en semillas de *C. chinense*

Se realizaron pruebas de toxicidad en semillas de *C. chinense* con cada fermento de acuerdo a los lineamientos de la US EPA (1996). La variedad utilizada de semillas de *C. chinense* fue Velociraptor (Lark Seeds, 2024). Se determinó la viabilidad de las semillas utilizando agua destilada estéril y posteriormente las semillas viables se esterilizaron con una solución de etanol al 70%. Se prepararon soluciones con concentraciones de 10, 25, 50 y 100% de cada fermento. Enseguida, diez semillas esterilizadas se colocaron sobre papel filtro dentro de cajas Petri y se expusieron a 3 mL de las soluciones de BS, y se utilizó como control 3 mL de agua destilada. Cada prueba de toxicidad se realizó por triplicado y su duración fue de siete días. Al final de las pruebas se determinó el índice de germinación (IG) de acuerdo a Andreev *et al.*, (2017) mediante la ecuación 3.7:

$$IG(\%) = (G \cdot CRR) \cdot 100 \quad (3.7)$$

Donde:

G = relación semillas germinadas en la solución bajo estudio/semillas germinadas en la solución control

CRR (Crecimiento Relativo de las Raíces) = relación longitud media de raíces en la solución bajo estudio/longitud media en la solución control

Asi mismo se determinaron los índices del porcentaje de germinación residual normalizado (IGN) y de elongación radical residual normalizado (IER), de acuerdo a Bagur-González *et al.*, (2011) mediante las ecuaciones 3.8 y 3.9:

$$IGN = \frac{Germ_x - Germ_{control}}{Germ_{control}} \quad (3.8)$$

Donde:

$Germ_x$ = porcentaje promedio de semillas germinadas en la solución bajo estudio

$Germ_{control}$ = porcentaje de semillas germinadas en la solución control

$$IER = \frac{Elong_x - Elong_{control}}{Elong_{control}} \quad (3.9)$$

Donde:

$Elong_x$ = longitud promedio de la raíz en la solución bajo estudio

$Elong_{control}$ = longitud promedio de la raíz en la solución control

De acuerdo con las siguientes clasificaciones, estos índices determinan valores de toxicidad que van de -1 a 0: de 0 a -0.25 toxicidad leve, de -0.25 a -0.50 toxicidad moderada, de -0.50 a -0.75 toxicidad alta y de -0.75 a -1 toxicidad muy alta (Rodríguez-Romero *et al.*, 2014).

3.4.5 Producción de plántulas de *S. officinarum*

Para la obtención de las plántulas de *S. officinarum* se colectaron muestras de caña de azúcar de la variedad ITV 92-1424 en un plantío de 10 meses de edad ubicado en el municipio de Zentla (19° 02' 53.1" N 96° 44' 37.1" W), Veracruz, México (Fig. 3.9). A partir de cada tallo se cortaron 4 trozos con yemas de 10 mm (Salgado-García *et al.*, 2019). Enseguida, las yemas se sumergieron en agua por 12 h y posteriormente fueron tratadas térmicamente a 50±0.5°C por 1 h (UNPCA, 2024). Se llenaron macetas de 3 L con el sustrato preparado, en cada maceta se colocó 1 yema, se cubrieron con 5 cm del sustrato y posteriormente se colocaron a cielo abierto.



Figura 3.9. Obtención de yemas para producción de plántulas de *S. officinarum*.

3.4.6 Determinación de la tasa agronómica para la aplicación de los fermentos

La tasa agronómica (TA) se determinó de acuerdo a lo reportado por de Matos Nascimento *et al.*, (2020) mediante la ecuación 3.10:

$$TA = 1000 \cdot \frac{N_{abs}}{[T_m \cdot N_{org} + (N_{amon} + N_{nit}) \cdot T_r]} \quad (3.10)$$

Donde:

TA = tasa de aplicación (m³/ha)

N_{abs} = absorción de nitrógeno por el cultivo (kg/ha)

T_m = tasa anual de mineralización del nitrógeno orgánico (kg/ [kg año])

N_{org} = nitrógeno orgánico (mg/L)

N_{amon} = nitrógeno amoniacal (mg/L)

N_{nit} = nitrógeno en forma de nitratos (mg/L)

T_r = tasa de recuperación de nitrógeno del cultivo (kg/ [kg año])

La absorción de nitrógeno se estableció en 120 kg/ha para *C. chinense* (Moreno-Salazar *et al.*, 2020) y 100 kg/ha para *S. officinarum* (CONADESUCA, 2015b). Las tasas de mineralización, T_m y T_r, fueron 0.5 y 0.7 kg/ [kg año] (de Mendonça *et al.*, 2018).

3.4.7 Aplicación de fermentos en plántulas de *C. chinense*

En la Tabla 3.3 se describen los tratamientos aplicados a las plántulas de chile habanero. La dosis de fermento se estableció en base a los resultados de las pruebas de toxicidad realizadas en la sección 3.4.2, a lo reportado por Pinter *et al.*, (2022) y el cálculo de la TA de acuerdo a la ec. 3.10. El volumen aplicado de la solución nutritiva (SN) se realizó en base a las recomendaciones de Favela-Chávez *et al.*, (2006) aplicando 10 mL de SN durante los primeros 45 d y 50 mL el resto del experimento. Se utilizó un diseño completamente al azar con 5 réplicas, donde cada réplica consistió en una maceta conteniendo una plántula de chile habanero. La composición de la SN utilizada fue N_{total} 20%, P₂O₅ 10%, K₂O 9%, MgO 4.5%, CaO 5.5 %, B 80 mg/L, Fe 250 mg/L, Zn 200 mg/L, Mn 100 mg/L, Cu 100 mg/L y Mo 100 mg/L.

Tabla 3.3. Tratamientos aplicados a plántulas de *C. chinense*.

Tratamiento	Descripción
C	Control – Solo sustrato
SN	Aplicación de solución nutritiva cada 7 d
L7	Aplicación de 50 mL de fermento de <i>L. acidophilus</i> LA-3 + SN cada 7 d
L14	Aplicación de 50 mL de fermento de <i>L. acidophilus</i> LA-3 cada 14 d + SN cada 7 d
B7	Aplicación de 50 mL de fermento de <i>B. subtilis</i> QS-713 + SN cada 7 d
B14	Aplicación de 50 mL de fermento de <i>B. subtilis</i> QS-713 cada 14 d + SN cada 7 d

No. réplicas=5

Para evaluar el efecto de los fermentos en el crecimiento de las plántulas de chile habanero, se midió la altura utilizando un flexómetro, el diámetro del tallo mediante un Vernier digital y el número de hojas mediante conteo manual considerando únicamente solo aquellas hojas formadas totalmente. La frecuencia de medición fue cada 30 d. El corte de frutos se realizó entre los 100 y 145 días después del trasplante (DDT), se contó el número de frutos cosechados por planta, se pesaron y se midió el diámetro ecuatorial y polar utilizando un Vernier digital. La biomasa fresca y seca de partes aéreas y raíces se determinó de acuerdo a

la metodología descrita por Lian *et al.*, (2021). Para los frutos recolectados se les determinó el contenido de capsaicina por el método espectrofotométrico de acuerdo a la metodología descrita por González-Leal *et al.*, (2025).

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA ($p \leq 0.05$) y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). En la Figura 3.10 se muestra un esquema de la metodología seguida para la aplicación de los fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en las plántulas de chile habanero.

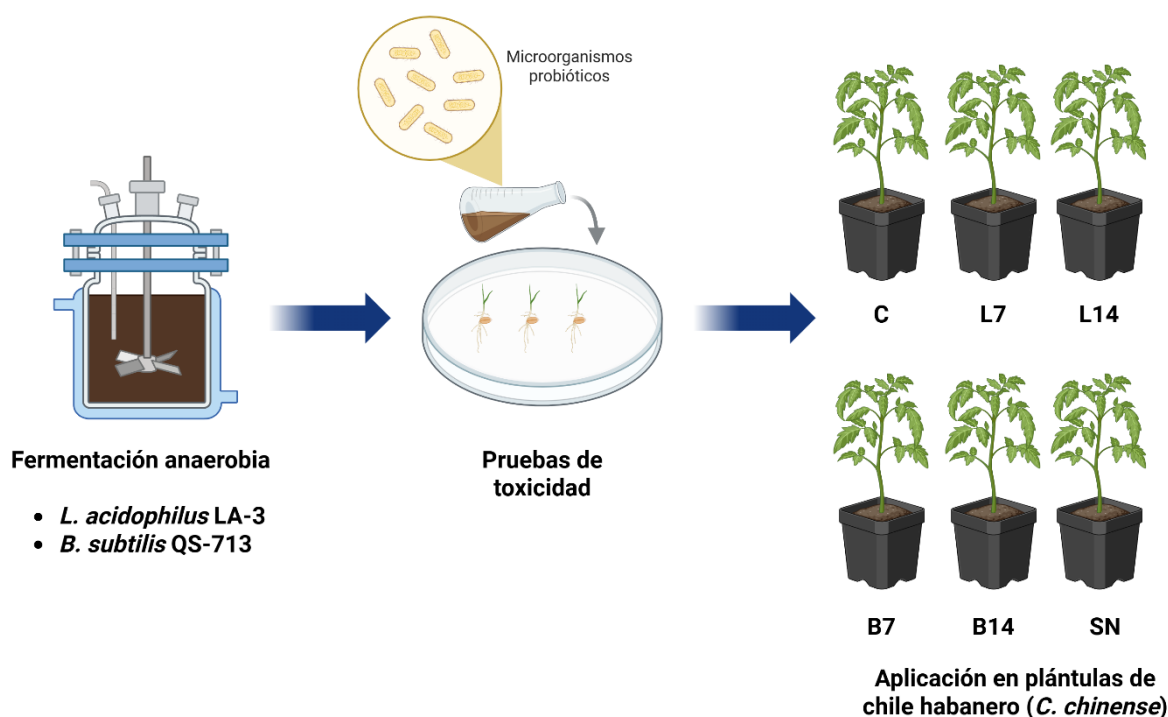


Figura 3.10. Representación esquemática de la metodología utilizada para evaluar la aplicación de fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en plántulas de chile habanero (*C. chinense*).

3.4.8 Aplicación de fermentos en plántulas de *S. officinarum*

Los tratamientos aplicados a las plántulas de caña de azúcar se describen en la Tabla 3.4. La fertilización convencional (FC) se realizó mediante la aplicación de 5.17 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 3.12 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, y 1.31 g de KCl por plántula, y fue establecida en base a los requerimientos nutricionales para caña de azúcar recomendados por la CONADESUCA (2015b). La dosis de los fermentos se estableció en base a los resultados de las pruebas de toxicidad realizadas en la sección 3.4.2, a lo reportado por Andreev *et al.*, (2017) y el cálculo

de la TA de acuerdo a la ec. 3.10. La aplicación de los tratamientos inició 7 d después de la siembra de las yemas, se utilizó un diseño completamente al azar con 10 réplicas, donde cada réplica consistió en una celda conteniendo 1 yema de caña de azúcar. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA ($p \leq 0.05$) y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabla 3.4. Tratamientos aplicados a plántulas de *S. officinarum*.

Tratamiento	Descripción
C	Control – Solo sustrato
FC	Aplicación de fertilización convencional
LA	Aplicación de 40 mL de fermento de <i>L. acidophilus</i> LA-3 cada 7 d + 25% de FC
BS	Aplicación de 40 mL de fermento de <i>B. subtilis</i> QS-713 cada 7 d + 25% de FC

No. réplicas=10

Para evaluar el crecimiento de las plántulas de caña de azúcar de cada tratamiento, se hicieron mediciones de la emergencia de brotes a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después del trasplante (DDT), y al final del experimento (60 DDT) se calculó el porcentaje de brotación (SP) de acuerdo a Leite *et al.*, (2023) mediante la ecuación 3.11:

$$SP = \frac{NE}{NT} \cdot 100 \quad (3.11)$$

Donde:

NE = número de yemas brotadas

NT = número de yemas colocadas para germinar.

Además, cada 7 d se midió la altura y número de hojas. La altura se midió utilizando un flexómetro y el número de hojas se realizó mediante conteo manual considerando únicamente solo aquellas hojas formadas totalmente. La biomasa fresca y seca de partes aéreas y raíces se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Lian *et al.*, (2021).

Los datos de altura de las plántulas de caña de azúcar de cada tratamiento se ajustaron utilizando el modelo de Gompertz de 4 parámetros, el cual se describió previamente mediante la ec. 3.6, donde a y b son la altura máxima y mínima respectivamente (cm), K es el coeficiente de tasa de crecimiento (cm/d), t es el tiempo (d) y T_i representa el tiempo de máximo crecimiento (d). Para obtener los modelos no lineales, se utilizó el método de mínimos cuadrados para la solución de las ecuaciones de modelado, y el mismo método para el análisis estadístico (IC 95%, $\alpha = 0,05$). Se usó el software GraphPad Prism 8 para obtener todos los parámetros del modelo. En la Figura 3.11 se muestra un esquema de la metodología seguida para la aplicación de los fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en las plántulas de caña de azúcar.

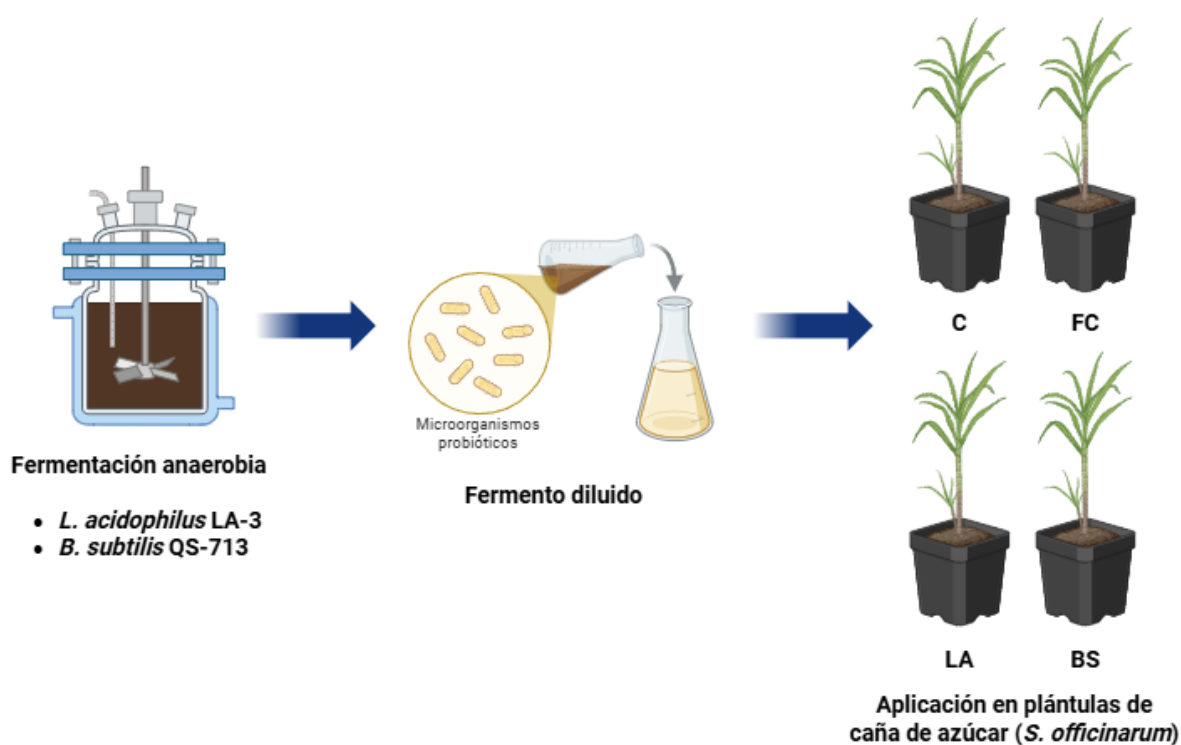


Figura 3.11. Representación esquemática de la metodología utilizada para evaluar la aplicación de fermentos obtenidos vía fermentación anaerobia en plántulas de caña de azúcar (*S. officinarum*).

Capítulo 4. Resultados y Discusión

4.1 Caracterización fisicoquímica de la CP, ALM y soluciones de CP

La composición de los residuos depende de varios factores como la variedad y madurez de la caña de azúcar, el tipo de suelo del cultivo, técnica de corte, el tratamiento del jugo y los aglomerantes utilizados (Santos *et al.*, 2020). En el caso de la CP la habilidad y experiencia del personal encargado de realizar la actividad de clarificación afecta en gran medida la composición de la misma, mientras que la composición del ALM se ve afectada por el tipo de proceso de lavado (rociado o por inmersión), entonces, la composición de los residuos puede ser diferente de un trapiche a otro. En la Tabla 4.1 se muestra la caracterización fisicoquímica de la CP y el ALM, así como la de las soluciones de CP.

Tabla 4.1. Caracterización fisicoquímica de la CP, ALM y soluciones de CP.

Parámetro [Unidad]	CP	ALM	Solución de CP [g CP/L]		
			50	100	150
pH [-]	6.80	5.60	6.39	6.62	6.70
Sólidos Totales [%]	29.81	1.93	2.74	3.95	5.12
Sólidos Totales Volátiles [%]	90.85	74.6	89.07	86.13	89.61
Carbohidratos [g L ⁻¹]	172.42	15.57	21.41	36.60	49.97
Nitrógeno [%]	1.33	NP	0.60	0.84	1.05
Proteínas [%]	8.35	NP	3.75	5.25	6.56

NP=No presente

El pH es un parámetro operacional que tiene un gran impacto en la hidrólisis del sustrato, las comunidades microbianas y los productos del proceso de fermentación, generalmente el valor de pH óptimo para incrementar el rendimiento de ácido láctico se encuentra en el rango de 4 a 5 (Tang *et al.*, 2017). La operación del proceso en valores de pH bajos permite el desarrollo adecuado de las BAL e inhibe el crecimiento de microorganismos productores de ácidos grasos volátiles (AGV's) y consumidores de ácido láctico (Pau *et al.*, 2022). Para los

residuos bajo estudio, se observa que el pH tiene tendencia ácida, 6.80 para la CP, 5.60 para el ALM, y 6.39, 6.62 y 6.70 para las soluciones de 50, 100 y 150 g CP/L respectivamente, por lo que no fue necesario realizar un ajuste inicial de pH para las pruebas de fermentación.

El contenido de ST afecta los microorganismos presentes en el medio y sus rutas metabólicas, ya que una disminución en el contenido de agua provoca el bloqueo de los poros del sustrato, afectando la transferencia de masa (Abid *et al.*, 2021). Para la CP, el contenido de ST fue de 29.81%, mientras que para el ALM fue de 1.93%. Para las soluciones de CP, el contenido de ST se encuentra en el rango de 2.5 – 5.5%, el cual se encuentra dentro de los valores normales de operación para procesos de fermentación anaerobia húmeda (Yousuf *et al.*, 2018). Así mismo, se observa un alto contenido de STV en ambos residuos, 90.85% para la CP y 74.60% para el ALM, mientras que para las soluciones de CP el contenido se encuentra en el rango de 86 a 89%. Estos valores son un indicativo del contenido de materia orgánica en los residuos y se debe principalmente al origen de los mismos.

La CP y el ALM al ser residuos generados del procesamiento de caña de azúcar, son ricos en carbohidratos, así la CP presentó un contenido de 172.42 g/L, mientras que para el ALM fue de 15.57 g/L. Estas diferencias se deben a que, durante el proceso de clarificación del jugo de caña, parte de éste se va junto con las impurezas separadas por los agentes floculantes provocando que la CP tenga un mayor contenido de carbohidratos. Para las soluciones de CP, se observa que el contenido disminuyó a causa de la dilución, presentando valores de 21.41, 36.60 y 49.97 g/L para las soluciones de 50, 100 y 150 g/L respectivamente. Estos valores indican que los residuos pueden utilizarse como sustrato para la fermentación anaerobia ya que los ambientes ricos en carbohidratos son ideales para el desarrollo de las BAL (Holzapfel & Wood, 2014).

Con respecto al contenido de nitrógeno y proteínas, la CP tiene 1.33% de nitrógeno total y 8.35% de proteínas, mientras que en el ALM el contenido es nulo ya que la planta de producción de la cual se obtuvieron los residuos utiliza agua potable para realizar el lavado de moldes, y de acuerdo a la norma mexicana (NOM-127-SSA1-2021) la presencia de nitrógeno, en forma de nitritos y nitratos, debe ser baja. Por otra parte, el contenido de nitrógeno en las soluciones de CP se encontró en el rango de 0.60 a 1.05%, en tanto que para las proteínas los valores estuvieron entre 3.75 y 6.56%. En otros estudios se reportaron

valores similares 0.18% por Mendieta *et al.*, (2020a) y 0.38% por Sanchez *et al.*, (2017). La presencia de nitrógeno es un factor importante ya que actúa como componente principal de los procesos catabólicos y anabólicos del metabolismo de los microorganismos (Rawoof *et al.*, 2021).

4.2 Cinéticas de fermentación anaerobia de CP

4.2.1 Comportamiento del pH

Se puede observar que el pH tiende a disminuir durante la fermentación anaerobia de las soluciones de CP con ambas cepas probióticas. Con el *L. acidophilus* LA-3 esta tendencia es más pronunciada, disminuyendo hasta un valor de 3.5 durante las primeras 24 h del proceso (Fig. 4.1a), por lo que fue necesario realizar un ajuste mediante la adición de NaOH 10 M para evitar la inhibición del crecimiento microbiano, posteriormente este parámetro continuó disminuyendo hasta alcanzar un valor de 4.8 en las tres cinéticas. Con el *B. subtilis* QS-713, la disminución del pH fue más moderada, hasta llegar a valores entre 5.1 y 5.2.

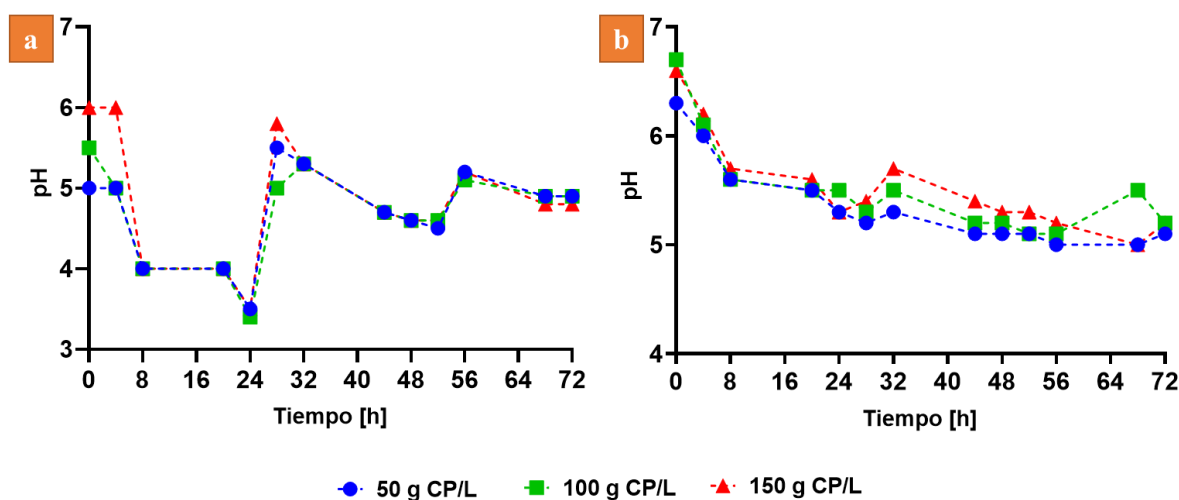


Figura 4.1. Comportamiento del pH durante la fermentación anaerobia de las soluciones de 50, 100 y 150 g CP/L con a) *L. acidophilus* LA-3 y b) *B. subtilis* QS-713.

Estas diferencias en cuanto a la disminución del pH se explican por el hecho de que la cepa *L. acidophilus* LA-3 además de producir ácido láctico, también produce otros ácidos orgánicos, como el ácido acético y fórmico, incrementando la concentración de iones H^+ en el medio (Icer *et al.*, 2023). En tanto que para la cepa *B. subtilis* QS-713, ésta también puede

producir ácido láctico, incluso en mayores cantidades, sin embargo, no produce otros ácidos orgánicos, además de que no tolera pH muy ácidos por lo que su metabolismo se puede modificar para disminuir el estrés ácido, provocando que el pH del medio no disminuya tanto como con el *L. acidophilus* LA-3 (Gao *et al.*, 2012).

4.2.2 Consumo de sustrato, producción de ácido láctico y densidad celular

En la Figura 4.2 se muestran los resultados de la fermentación anaerobia de las soluciones de CP con cada uno de los microorganismos. En la fermentación de la solución de 50 g CP/L (Fig. 4.2a) con el *L. acidophilus* LA-3 se observa que el mayor consumo de sustrato se presenta durante las primeras 20 h del proceso consumiéndose alrededor del 86.45% de los carbohidratos iniciales. Al final de las 72 h se alcanzó un consumo final del 91.91% del sustrato, equivalente a 19.68 g de carbohidratos. En lo que respecta al parámetro de producción de ácido láctico se generó una cantidad de 6.19 g AL/L. La máxima densidad celular para esta cinética se presentó a las 8 h y fue de 8.70 log UFC/mL. Con el *B. subtilis* QS-713 el consumo de sustrato fue más lento debido a que se tuvo una densidad celular inicial menor a la del *L. acidophilus* LA-3 (6.67 log UFC/mL), alcanzando un consumo máximo de carbohidratos del 83.04% al final de las 72 h, lo que representa un consumo de 21.3 g de los carbohidratos iniciales. La producción de AL fue ligeramente mayor a la del *L. acidophilus* LA-3 con 8.10 g AL/L. La densidad celular incrementó hasta un valor máximo de 7.16 log UFC/mL a las 72 h.

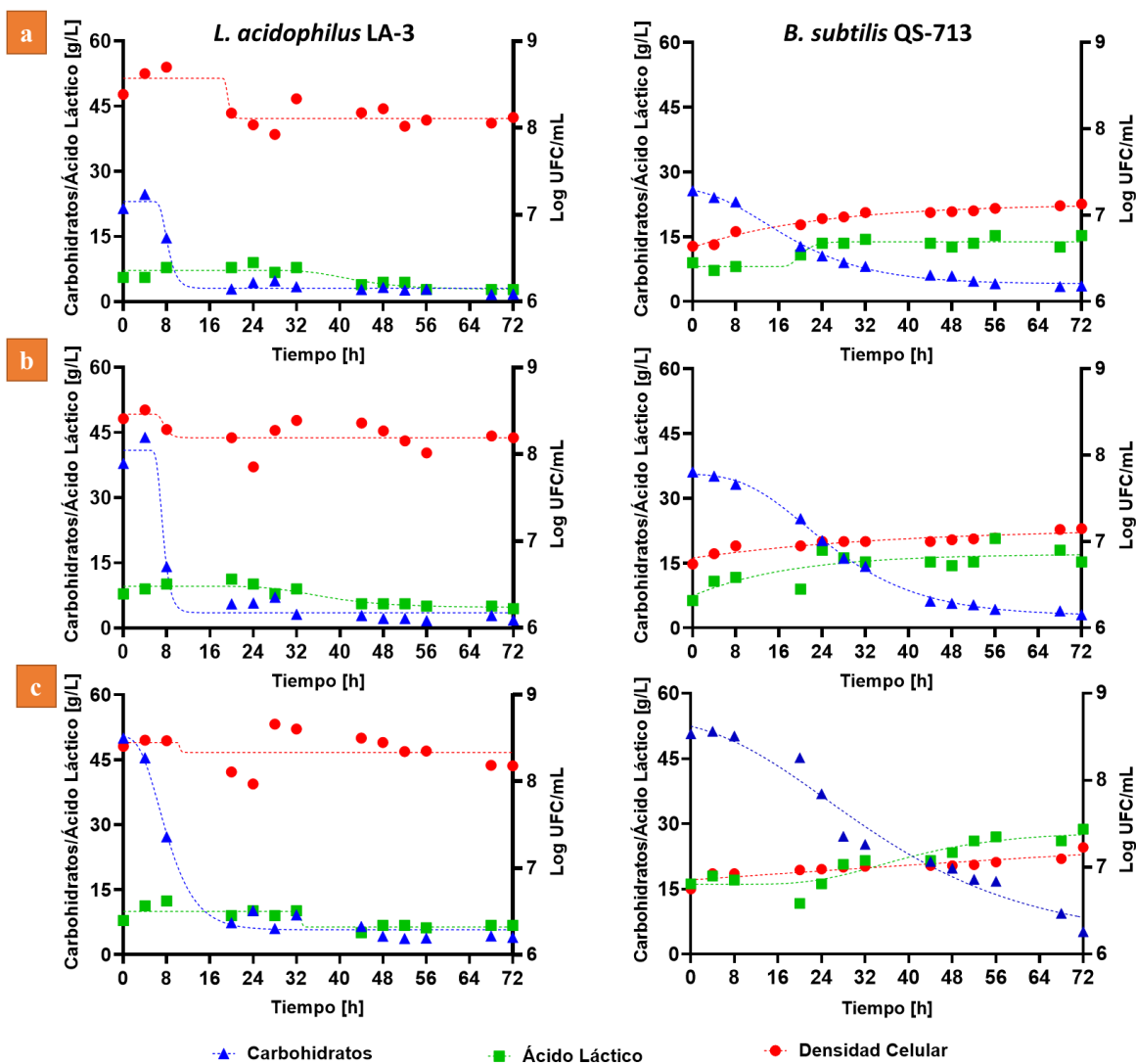


Figura 4.2. Consumo de sustrato, producción de ácido láctico y densidad celular durante la fermentación anaerobia de las soluciones de a) 50, b) 100 y c) 150 g CP/L con *L. acidophilus* LA-3 (izq.) y *B. subtilis* QS-713 (der.).

En la cinética de fermentación de la solución de 100 g CP/L (Fig. 4.2b), después de 72 h se consumieron 95.25% de los carbohidratos, equivalente a 36.10 g de sustrato con la cepa *L. acidophilus* LA-3. Así mismo, se alcanzó una producción de 6.75 g AL/L. A pesar de que los valores de consumo de sustrato y producción de AL son similares a los de la cinética de la solución de 50 g CP/L, la máxima cantidad de microorganismos fue de 8.51 log UFC/mL y se presentó a las 4 h de iniciado el proceso. En el caso de la fermentación con *B. subtilis* QS-713 después de 72 h hubo un consumo del 81.00% de sustrato, lo que equivale a 29.26 g de los carbohidratos iniciales. La producción de AL también fue mayor a la obtenida en la

cinética con *L. acidophilus* LA-3 siendo de 14.4 g AL/L. Mientras que para la densidad celular el valor máximo se alcanzó a las 72 h, con 7.15 log UFC/mL.

Las cinéticas de fermentación para la solución de 150 g CP/L (Fig. 4.2c) con *L. acidophilus* LA-3 muestran que el consumo de sustrato fue similar al de las otras soluciones. Después de 72 h se alcanzó un consumo del 92.13% del sustrato, lo que representa 46.04 g de los carbohidratos iniciales, mientras que la producción de AL fue de 7.31 g AL/L. Para esta cinética, la máxima cantidad de microorganismos se presentó a las 28 h de iniciado el proceso, alcanzando un valor de 8.66 log UFC/mL. Con el *B. subtilis* QS-713 el comportamiento del proceso fue similar, presentándose el máximo consumo de sustrato a las 72 h con el 87.57% (44.4 g de los carbohidratos iniciales). Se alcanzo una producción máxima de AL de 17.1 g AL/L y la mayor densidad celular fue de 7.23 log UFC/mL.

Es posible observar que el consumo promedio de sustrato de las cinéticas fue de 93.10% con *L. acidophilus* LA-3 y 83.87 % con *B. subtilis* QS-713. Estos resultados son similares a lo reportado por Romero-Mota *et al.*, (2023) quienes alcanzaron un consumo de carbohidratos del 94.16% durante la bioconversión anaerobia de residuo agro cañero pretratado térmicamente utilizando *L. acidophilus* y una velocidad de agitación de 100 rpm. Otros estudios han reportado valores más bajos, así, Alvarado-Morales *et al.*, (2021) reportaron un consumo de 71.8% de carbohidratos totales después de 14 h de fermentación de biopulpa municipal utilizando la bacteria *Lactobacillus delbrueckii*, mientras que Sánchez-Valeriano *et al.*, (2022) reportaron un consumo del 52.14% de sustrato en la fermentación de residuo de maíz blanco con *L. acidophilus*.

Estas diferencias entre los valores de consumo de sustrato se deben a las características fisicoquímicas de cada uno, la biopulpa y el residuo de maíz blanco tienen un mayor contenido lignocelulósico, dificultando la degradación por parte de los microorganismos. En la CP y el ALM al no existir material lignocelulósico y el hecho de que los carbohidratos se encuentran solubilizados, a causa de la hidrólisis térmica durante el calentamiento del jugo de caña en el proceso de clarificación, permiten que exista un mejor intercambio de masa y contacto con el sustrato mejorando la adaptación los microorganismos.

En lo que respecta a la producción de AL con *L. acidophilus* LA-3, en las tres cinéticas los valores se encuentran en el intervalo de valores reportados por otros autores utilizando la

misma bacteria. Macedo *et al.*, (2020) obtuvieron una producción de 66.90 g AL/L fermentando bagazo de yuca previamente hidrolizado mediante enzimas; Solval *et al.*, (2019) reportan una producción de 7.00 g AL/L utilizando medio MRS con clara de huevo hidrolizada como sustrato para la fermentación y Wu *et al.*, (2015) utilizando un consorcio de bacterias, incluyendo *L. acidophilus*, obtuvieron una producción en el rango de 10 a 20 g AL/L, durante la fermentación de residuos de frutas y vegetales.

Otro comportamiento que se observa, es que después de las 24 h, en las tres cinéticas con el *L. acidophilus* LA-3 hubo una disminución en el contenido de AL. Una explicación de este proceso es que el AL puede ser utilizado como sustrato por otros microorganismos y ser biotransformado hacia otros productos como ácidos grasos de cadena corta como el propiónico y el butírico (De Groof *et al.*, 2021; Holgado *et al.*, 2021).

En el caso del *B. subtilis* QS-713 la producción de AL fue mayor a la obtenida con el *L. acidophilus* LA-3, aunque los valores obtenidos se encuentran por abajo de lo reportado por Gao *et al.*, (2012), quienes alcanzaron una producción de 183 g AL/L después de 52 h, durante la fermentación de glucosa, y son mayores a lo reportado en otro estudio fermentando de igual forma glucosa, pero bajo condiciones aeróbicas (Castells *et al.*, 2022) donde obtuvieron concentraciones de 5 g AL/L.

Es posible notar que las producciones de AL para ambos microorganismos se encuentran por debajo de las productividades de otros microorganismos productores de AL (Abedi & Hashemi, 2020), lo cual se atribuye al bajo contenido de nitrógeno presente en los sustratos, y que afecta el metabolismo de las bacterias. En el caso del *L. acidophilus* LA-3, éste requiere cantidades significativas de aminoácidos, debido a que la ruta vía pentosa – fosfato no es totalmente funcional y se obtienen otros subproductos (Solval *et al.*, 2019).

Respecto a la densidad celular, para el *L. acidophilus* LA-3 se observa que en las tres cinéticas se presentó una disminución en la concentración después de 8 h de fermentación, la cual se atribuye a que durante este lapso existió el mayor consumo de sustrato y la máxima producción de AL, provocando una disminución en el pH a un valor promedio de 3.5. Con el *B. subtilis* QS-713, la concentración de microorganismos tuvo un ligero aumento en las tres cinéticas, ya que la velocidad de consumo de carbohidratos y acidificación del medio por la presencia de AL fue menor, permitiendo que el crecimiento microbiano no se inhibiera.

4.2.3 Producción de biomasa proteica

La producción de biomasa y su contenido de proteínas inicial (0 h) y final (72 h) en el proceso de fermentación anaerobia se muestran en la Figura 4.3. Con la cepa *L. acidophilus* LA-3, en la fermentación de la solución de 50 g CP/L hubo una producción de 10.11 g/L de biomasa, con un rendimiento de 0.51 g BP/CC, mientras que para las soluciones de 100 y 150 g CP/L la producción de biomasa fue de 19.47 y 24.00 g/L con rendimientos de 0.53 y 0.52 g BP/g CC respectivamente. En las cinéticas con el *B. subtilis* QS-713 para las concentraciones de 50, 100 y 150 g CP/L se obtuvieron valores de 5.48, 8.74 y 13.52 g/L de biomasa respectivamente, lo que equivale a rendimientos de 0.25, 0.29 y 0.30 g BP/g CC.

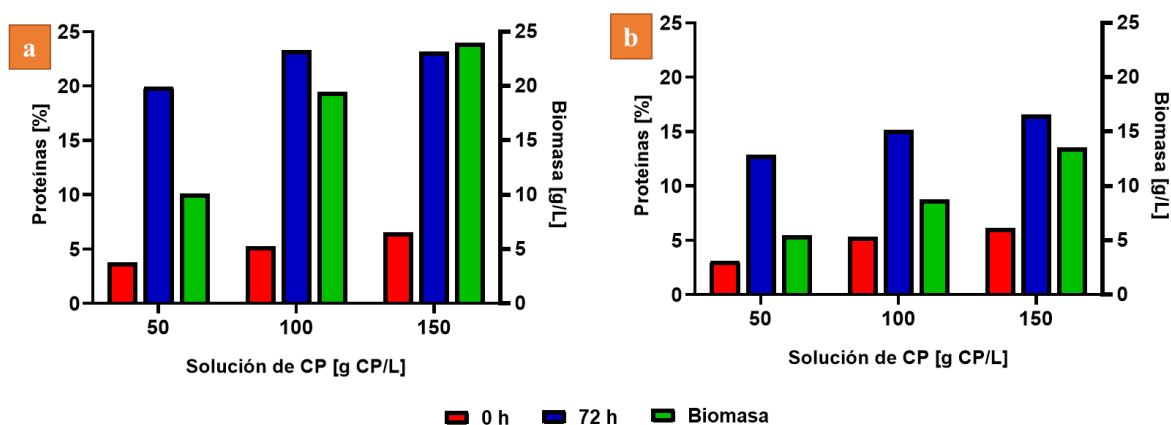


Figura 4.3. Contenido proteico de la biomasa generada durante la fermentación anaerobia de las soluciones de 50, 100 y 150 g CP/L con a) *L. acidophilus* LA-3 y b) *B. subtilis* QS-713.

Los valores obtenidos son mayores a los reportados en otros estudios, así, Chasoy *et al.*, (2020) obtuvieron una cantidad máxima de biomasa de 4.07 g/L durante el estudio del efecto de la relación C/N y el pH inicial en la fermentación láctica en caldo MRS utilizando la cepa *Lactobacillus casei subsp casei*, mientras que Malvido *et al.*, (2019) reportaron una producción de biomasa de 5.98 g/L utilizando la cepa *Lactococcus lactis* para llevar a cabo la fermentación de suero de leche diluido en modo batch y semicontinuo, y Behzadnia *et al.*, (2019) obtuvieron 4.33 g/L de biomasa utilizando la bacteria *Lactobacillus plantarum* para la fermentación de caldo MRS estándar y MRS modificado aplicando ultrasonido a diferentes frecuencias. Rocafuerte Peña (2022) obtuvo valores de producción de biomasa de 2.26, 2.66

y 3.43 g/L fermentando residuos de café pergamino con 5, 10 y 15% de inóculo de *B. subtilis* respectivamente.

En lo que se refiere al contenido de proteínas de las biomasas, en la cinética para la solución de 50 g CP/L con *L. acidophilus* LA-3 a las 0 h se tenía un 3.75% de proteínas incrementando a 19.94% a las 72 h, en tanto que con el *B. subtilis* QS-713 el contenido aumentó de 3.12 a 12.83%. Durante la fermentación de la solución de 100 g CP/L de igual manera se presentó un aumento de 5.25% a 23.31%, mientras que con el *B. subtilis* QS-713 a las 0 h se tenía una concentración de 5.32% y a las 72 h el contenido aumentó a 15.18%. Finalmente, para durante la fermentación de la solución de 150 g CP/L hubo un incremento de 6.56 a 23.19% con el *L. acidophilus* LA-3, mientras que para el *B. subtilis* QS-713 la concentración incrementó de 6.15 a 16.59%.

Como se puede observar, las biomasas generadas durante las fermentaciones de las 3 soluciones de CP con *L. acidophilus* LA-3 presentaron un mayor contenido de proteínas respecto a las biomasas generadas a partir de la cepa *B. subtilis* QS-713. Esto se atribuye al hecho de que la cepa *L. acidophilus* LA-3 encontró mejores condiciones para su crecimiento en la solución de CP, permitiendo una mayor multiplicación celular y por ende una mayor generación de biomasa y mayor contenido de proteínas (Fernández-Martínez *et al.*, 2024). En cuanto a la cepa *B. subtilis* QS-713, al no encontrar condiciones adecuadas de crecimiento, principalmente la falta de nitrógeno, se liberan enzimas denominadas proteasas las cuales degradan las proteínas de la biomasa presente en el medio para poder subsistir (Harwood & Kikuchi, 2022), provocando un menor contenido proteico en la biomasa al final del proceso fermentativo.

Aunque en las biomasas obtenidas se presentó un incremento en el contenido de proteínas, éste se encuentra por debajo del rango de proteínas en biomasas producidas por bacterias, el cual oscila entre 50 – 80% (Jones *et al.*, 2020). De igual manera, se encuentran por debajo de los valores que se reportan en biomasas obtenidas de microalgas, los cuales oscilan entre 30 y 80% dependiendo la especie, sin embargo, los costos de producción utilizando esta tecnología resultan ser elevados (Janssen *et al.*, 2022). A pesar de lo anterior, una de las ventajas de las biomasas obtenidas vía fermentación anaerobia con cepas probióticas, es que la presencia de estos microorganismos le confiere propiedades para que puedan ser utilizadas

como alimento (Arsène *et al.*, 2021) o ser aplicadas como biofertilizantes (Allouzi *et al.*, 2022).

4.3 Parámetros cinéticos de densidad celular

Las curvas de consumo de sustrato y densidad celular de la fermentación anaerobia en el reactor de 0.5 L para cada microorganismo se muestran en la Figura 4.4. Los porcentajes de consumo de sustrato son ligeramente menores, 86.37% con *L. acidophilus* LA-3 y 78.51% con *B. subtilis* QS-713, a los obtenidos durante la fermentación de las soluciones a diferente concentración de CP. Estas diferencias se deben al escalamiento del proceso, lo cual influyó en el consumo de sustrato. Los cambios de escala en los procesos fermentativos impactan en la transferencia de masa y energía en el reactor, así como en la biomasa microbiana, afectando el consumo de sustrato (Bouallagui *et al.*, 2010).

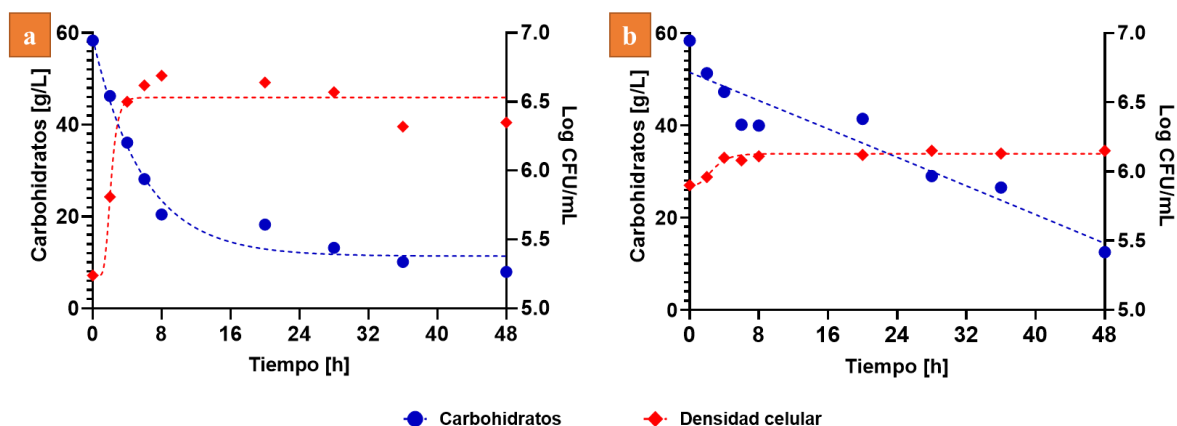


Figura 4.4. Consumo de sustrato y densidad celular durante la fermentación anaerobia de la solución de CP en el reactor de 0.5 L con a) *L. acidophilus* LA-3 y b) *B. subtilis* QS-713.

De acuerdo a la densidad celular, se observa que la cepa *L. acidophilus* LA-3 presenta una mejor afinidad por la solución de CP, con respecto a la cepa *B. subtilis* QS-713, al presentar un crecimiento mayor durante las primeras horas de la fermentación. Esto se debe principalmente a que el metabolismo del *B. subtilis* se ve influenciado por el tipo de residuo y su origen (Rogeri *et al.*, 2023), además de que es un microorganismo que se desarrolla mejor bajo condiciones aeróbicas y en presencia de compuestos nitrogenados (Park *et al.*, 2021), y en el caso de los residuos utilizados como sustratos, estos se caracterizan por presentar un bajo contenido de nitrógeno.

En la Tabla 4.2 se muestran los parámetros del modelo de Gompertz de 4 parámetros ajustados a los datos de densidad celular de cada especie probiótica. Es posible observar que el tiempo de acondicionamiento fue menor en la cepa *B. subtilis* QS-713 (1.058 h) comparado con el de la cepa *L. acidophilus* LA-3 (1.349 h), sin embargo, la tasa de crecimiento fue mayor para esta última cepa (0.678 h⁻¹). Lo anterior indica que la cepa *B. subtilis* QS-713 se adaptó rápidamente a la solución de CP, sin embargo, después no encontró las condiciones propicias para tener un crecimiento más rápido y sostenido.

Tabla 4.2. Parámetros estimados del modelo de Gompertz de 4 parámetros para la densidad celular de las cepas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

Cepa	K [g L ⁻¹]	T _i [h]	λ [h]	μ _{max} [h ⁻¹]	R ²
<i>L. acidophilus</i> LA-3	1.845	1.891	1.349	0.678	0.933
<i>B. subtilis</i> QS-713	0.839	2.250	1.058	0.308	0.949

Al comparar las tasas de crecimiento obtenidas con la de otros estudios, se observa que las del presente trabajo son mayores. Así, la tasa de crecimiento para la cepa *L. acidophilus* LA-3 es mayor a la reportada por Sánchez-Valeriano *et al.*, (2022) durante la fermentación anaerobia de residuos de maíz utilizando la misma especie probiótica (0.114 h⁻¹). Con respecto a la tasa de crecimiento de la cepa *B. subtilis* QS-713, esta es mayor a la tasa de crecimiento (0.030 h⁻¹) reportada por Romero-Mota *et al.*, (2024), durante la cofermentación de estiércol bovino y melaza. Estas diferencias se deben principalmente a que los carbohidratos presentes en la CP se encuentran hidrolizados por el efecto de la alta temperatura durante el proceso de clarificación del jugo de caña durante la producción de piloncillo (Venkatesh *et al.*, 2023).

4.4 Caracterización fisicoquímica de los fermentos

La caracterización fisicoquímica de los fermentos obtenidos, ésta se muestra en la Tabla 4.3. Se observa que ambos fermentos presentan un pH ácido, 3.87 para el de *L. acidophilus* LA-3 y 3.56 para el de *B. subtilis* QS-713. Lo anterior se debe al contenido de LA, el cual se genera durante el proceso fermentativo (de Souza *et al.*, 2023), así, también es posible observar que la concentración de este ácido es mayor en el fermento de *L. acidophilus* LA-3, 2.25 g/L, respecto al de *B. subtilis* QS-713, 1.80 g/L.

Tabla 4.3. Caracterización fisicoquímica de los fermentos obtenidos a partir de la fermentación anaerobia de los residuos de la agroindustria piloncillera.

Parámetro [Unidad]	Fermento	
	<i>L. acidophilus</i> LA-3	<i>B. subtilis</i> QS-713
pH [-]	3.87	3.56
ST [%]	5.12	5.44
STV [%]	80.90	85.73
Carbohidratos [g/L]	7.95	12.54
Ácido Láctico [g/L]	2.25	1.80
Nitrógeno total [mg/L]	1696.18	1011.37
Nitrógeno amoniacal [mg/L]	200.53	205.75
Nitratos [mg/L]	60.66	60.48

Los ST y STV presentan una ligera disminución respecto al contenido inicial en la solución de CP. En el caso de los ST de ambos fermentos, los valores se encuentran en el rango óptimo para que los mecanismos de transferencia de masa a nivel celular de los microorganismos puedan desarrollarse y no se afecte la transferencia de nutrientes, y por ende su crecimiento (Abid *et al.*, 2021). En el caso de los STV, se observa que estos se encuentran por arriba del 80%, siendo un indicativo del alto contenido de materia orgánica presente en los residuos, y que es característico de los residuos de origen agroindustrial (Chhetri *et al.*, 2020).

En ambos fermentos, los carbohidratos presentan una disminución ya que estos son utilizados como sustrato por los microorganismos probióticos. Así, el fermento de *L. acidophilus* LA-3 presenta un contenido de 7.95 g/L, mientras que el de *B. subtilis* QS-713 contiene 12.54 g/L. Estos carbohidratos residuales en los fermentos se consideran aceptables, ya que sirven como fuente de carbono tanto para los microorganismos de los fermentos y del suelo durante su aplicación a las plántulas de chile habanero y caña de azúcar.

El parámetro de nitrógeno total incrementa en ambos fermentos como consecuencia de la generación de bacteriocinas y compuestos nitrogenados relacionados con el crecimiento

celular de los microorganismos anaerobios (de Souza *et al.*, 2023). Lo anterior ha quedado demostrado en diferentes estudios donde se han tratado residuos de origen agroindustrial mediante fermentación anaerobia con microorganismos probióticos (FAP); así, Estrada-García *et al.*, (2025) evaluaron la FAP de granos gastados de cerveza artesanal con las cepas *L. casei* y *B. subtilis*, y las biomasas obtenidas presentaron un contenido de proteínas 126% mayor al residuo sin tratamiento. Por otra parte, durante la biotransformación anaerobia de residuos agro cañeros con *L. acidophilus* Romero-Mota *et al.*, (2023) reportaron una generación de 154.65 g/L de biomasa probiótica proteica.

4.5 Aplicación de fermentos en plántulas de chile habanero (*C. chinense*)

4.5.1 Pruebas de toxicidad de fermentos en semillas de *C. chinense*

Los fermentos obtenidos muestran un efecto inhibitorio en la germinación de las semillas de *C. chinense* cuando las concentraciones de las soluciones son mayores al 25% (Fig. 4.5). Estos resultados son similares a los reportados por Pinter *et al.*, (2022) quienes al realizar pruebas de toxicidad de soluciones de fermento láctico en semillas de *Latuca sativa*, observaron un efecto fitotóxico cuando la concentración de la solución era mayor al 10%, al presentarse porcentajes de germinación menores al 25%, y longitudes de raíz de 0.1 cm. De igual forma Andreev *et al.*, (2017) realizaron pruebas de toxicidad en semillas de *Raphanus sativus* comparando la aplicación de orina fermentada al 10% y orina sin fermentar, y encontraron que hubo un mayor porcentaje de germinación con la orina fermentada (74-86%) que con la orina sin fermentar (2-31%).

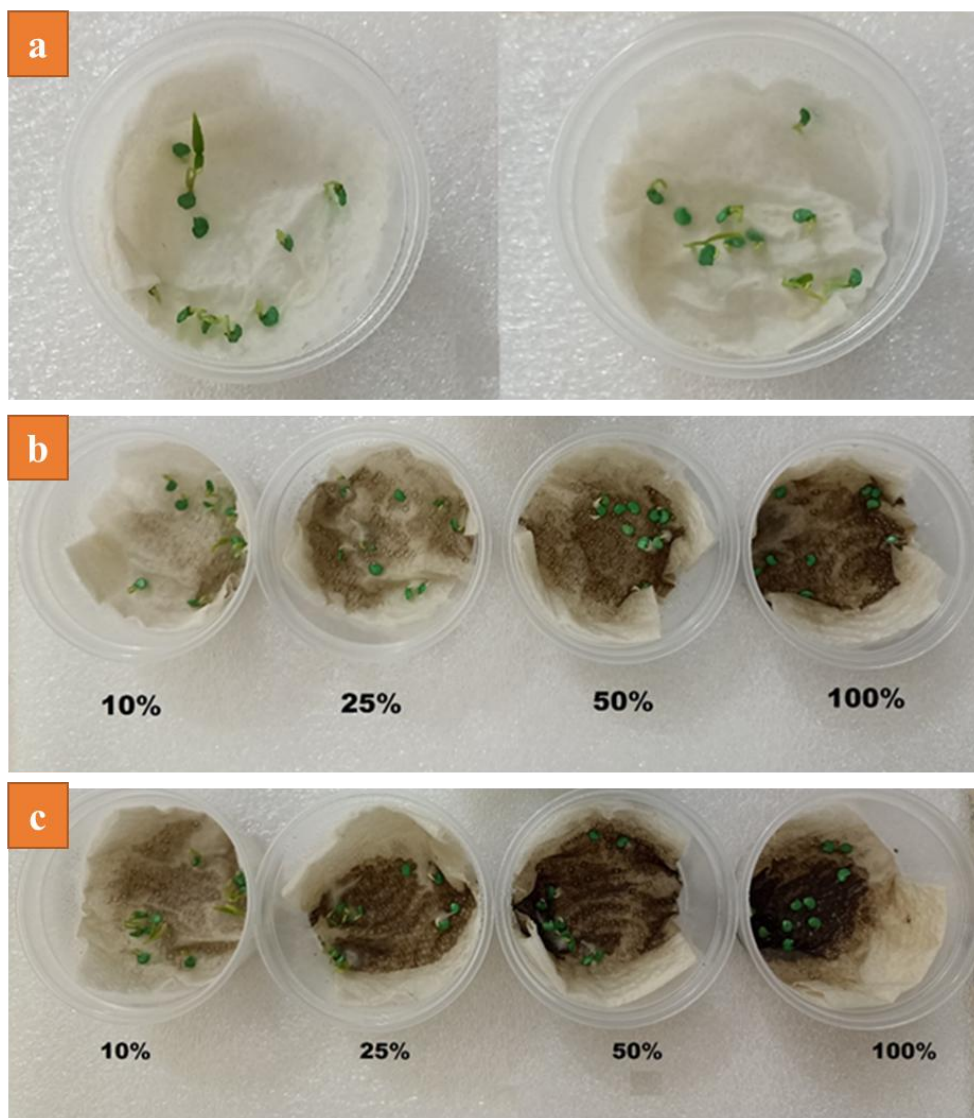


Figura 4.5. Germinación de semillas de *C. chinense* en control (a), fermentos de *L. acidophilus* LA-3 (b) y *B. subtilis* QS-713 (c).

En relación al índice de germinación (IG) y la longitud de la raíz (LR), en la Figura 4.6 se muestra el comportamiento de cada parámetro para ambos fermentos. Se puede observar que el IG disminuye conforme incrementa la concentración de la solución, así, con el fermento obtenido de *L. acidophilus* LA-3 los IG para las soluciones de 10, 25 y 50% fueron 71.25, 37.71 y 10.20% respectivamente, mientras que para el fermento de *B. subtilis* QS-713 los IG fueron 65.25, 51.25 y 13.03% para las mismas concentraciones de la solución. En cuanto a la LR, el comportamiento fue similar al del IG, y es posible observar que la longitud fue mayor en las soluciones de fermento obtenido de *B. subtilis* QS-713, lo cual se debe

principalmente a que esta cepa tiende a sobrevivir un mayor tiempo en el medio y promueve el crecimiento de las plantas de manera más eficiente en comparación con otros microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) (Mahapatra *et al.*, 2022).

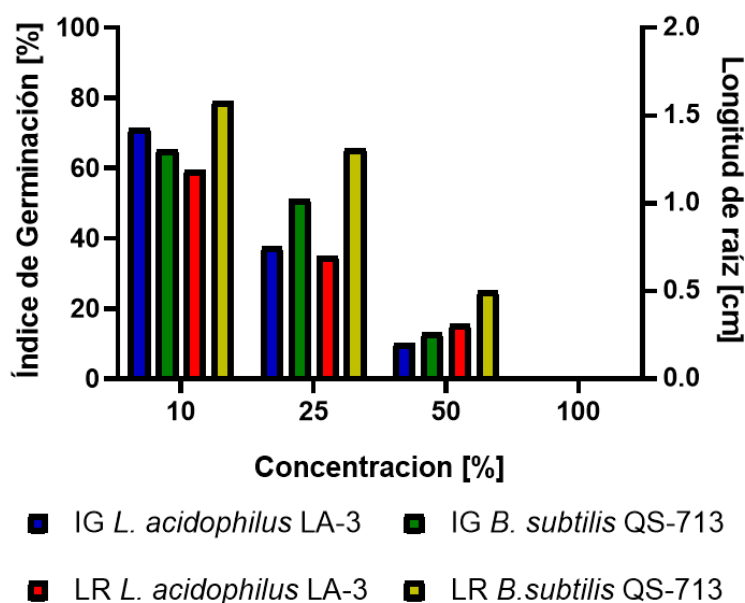


Figura 4.6. Índice de Germinación (IG), longitud de raíz (LR) de *C. chinense* durante las pruebas de toxicidad con los fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

Además de la determinación del IG y medición de la longitud de raíz también se determinaron el índice de porcentaje de germinación residual normalizado (IGN) y el de elongación radical residual normalizado (IER), los cuales se muestran en la Figura 4.7. Estos índices establecen valores de toxicidad desde -1 a >0 bajo las siguientes categorías: de 0 a -0.25 baja toxicidad, de -0.25 a -0.50 toxicidad moderada, de -0.50 a -0.75 toxicidad alta y de -0.75 a -1 toxicidad muy alta (Rodríguez-Romero *et al.*, 2014).

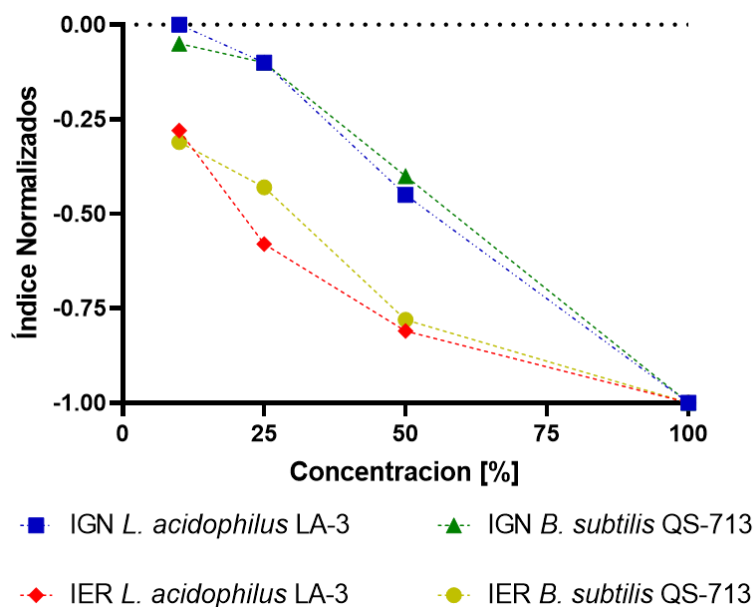


Figura 4.7. Índice de Germinación Normalizado (IGN) e Índice de Elongación de Raíz (IER) de *C. chinense* durante las pruebas de toxicidad con los fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

Los valores obtenidos para el IGN en ambos fermentos muestran que, al incrementar la concentración de fermento en la solución, aumenta el nivel de toxicidad de la misma, así cuando la concentración es del 10 y 25%, la toxicidad es baja por lo que la germinación de las semillas es viable, al 50% la toxicidad se considera moderada y para el 100% es alta. En cuanto al IER, el nivel de toxicidad incrementa de moderado a alto cuando aumenta la concentración de la solución.

Para las soluciones de fermento de *B. subtilis* QS-713, el nivel de toxicidad es moderado cuando la concentración es del 10 y 25%, mientras que es alto cuando la concentración es mayor al 50%. En las soluciones de fermento de *L. acidophilus* LA-3, la toxicidad es moderada cuando la concentración es del 10%, y resulta tóxica cuando la concentración es mayor al 25%. La principal causa de esta toxicidad es el pH, el cual disminuye conforme aumenta la concentración de fermento en las soluciones. Los valores de pH bajos o ácidos afectan la solubilidad de nutrientes en el medio, además de que limita el crecimiento de raíces y el contacto de éstas con los nutrientes (Naz *et al.*, 2022).

4.5.2 Efecto de fermentos en plantas y frutos de *C. chinense*

En la Figura 4.8 se muestra el efecto de los fermentos en las plantas a los 90 DDT y en la Tabla 4.4 se muestran los resultados de las mediciones de altura, diámetro de tallo y número de hojas realizadas a los 30, 60 y 90 DDT. En las tres mediciones realizadas, la altura de la planta no presentó diferencias entre los tratamientos, aunque se observa que en los tres casos la altura fue menor en el tratamiento C, 16.90, 20.65 y 21.10 mm a los 30, 60 y 90 d respectivamente. A los 60 d las plantas del tratamiento B14 (23.30 cm) y L7 (23.26 cm) fueron las que presentaron una mayor altura, en tanto que, a los 90 d la altura fue mayor en los tratamientos L7 (24.64 cm) y L14 (24.62 cm).

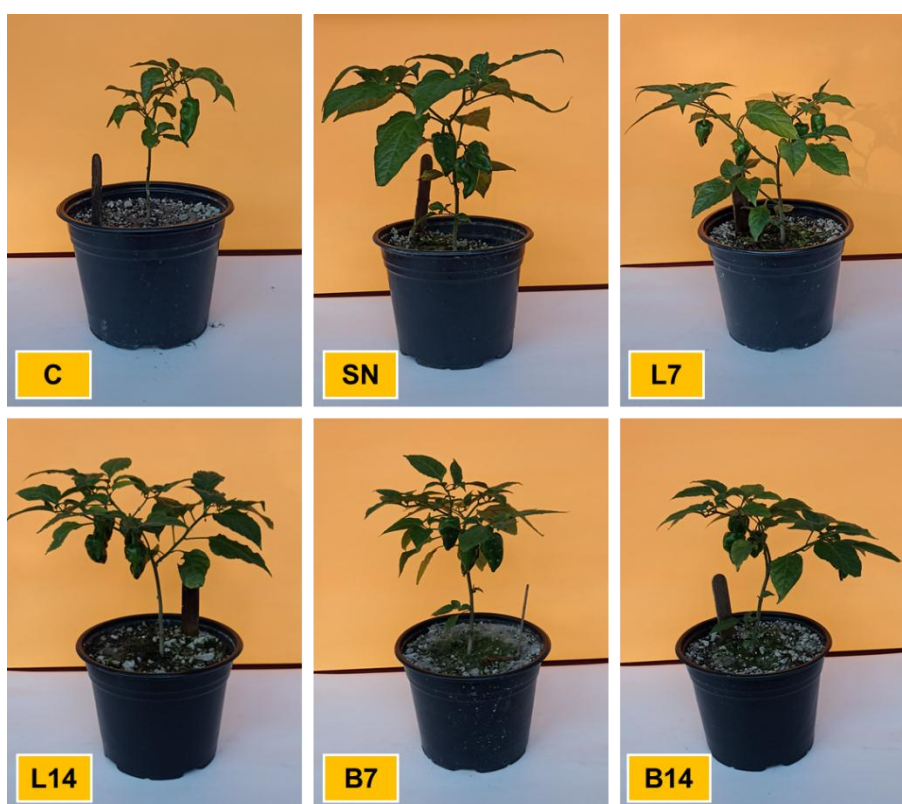


Figura 4.8. Efecto de la aplicación de BI de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 en plantas de *C. chinense* a 90 DDT.

Con respecto al diámetro del tallo, en los primeros 30 d del experimento no se presentaron diferencias entre los tratamientos. A partir de los 60 d, el diámetro del tratamiento C (3.86 mm) fue menor al resto de los tratamientos en los cuales este parámetro se encuentra en el rango de 4.72 a 5.11 mm. Este comportamiento fue similar a los 90 d, donde el diámetro de

las plantas del tratamiento C solo incrementó 0.08 mm, mientras que en el resto de los tratamientos el diámetro del tallo presentó un incremento promedio de 0.74 mm. Las plantas que presentaron un mayor aumento del diámetro fueron las de los tratamientos B7 (1.01 mm), B14 (0.76 mm) y SN (0.79 mm).

Tabla 4.4. Variables agronómicas de plantas de *C. chinense* con aplicación de fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

Tratamiento	Altura [cm]		
	30 DDT	60 DDT	90 DDT
C	16.90 a	20.65 a	21.10 a
L7	17.86 a	23.26 a	24.64 a
L14	18.70 a	23.26 a	24.62 a
B7	17.86 a	22.72 a	23.68 a
B14	18.08 a	23.30 a	24.46 a
SN	17.66 a	22.86 a	24.33 a
Tratamiento	Diámetro del tallo [mm]		
	30 DDT	60 DDT	90 DDT
C	2.83 a	3.86 b	3.94 b
L7	2.91 a	4.72 a	5.30 a
L14	2.97 a	5.11 a	5.66 a
B7	2.98 a	4.74 a	5.75 a
B14	2.94 a	4.93 a	5.69 a
SN	2.84 a	4.74 a	5.53 a
Tratamiento	No. Hojas		
	30 DDT	60 DDT	90 DDT
C	9.50 a	15.00 b	17.50 b
L7	9.20 a	21.40 ab	31.40 ab
L14	8.40 a	25.00 a	40.20 a
B7	9.00 a	22.20 a	37.80 a
B14	8.60 a	25.20 a	38.60 a
SN	8.00 a	21.00 ab	37.67 a

Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

La variable del número de hojas, durante los primeros 30 d presentó un comportamiento similar al diámetro del tallo, no presentándose diferencias entre los tratamientos. A los 60 d, hubo diferencias significativas entre el tratamiento C y los tratamientos L14, B7 y B14, siendo mayor el número de hojas en las plantas del tratamiento B14 (25.20). A los 90 d, el tratamiento C continuó presentando menor número de hojas que el resto de los tratamientos y hubo diferencias significativas entre el tratamiento C y los tratamientos L7, L14, B7, B14 y SN, presentándose el mayor número de hojas en el tratamiento L14 (40.20).

Los valores obtenidos de altura, diámetro de tallo y número de hojas son similares a los reportados en otros estudios (Mejía-Bautista *et al.*, 2022; Ruíz-Sánchez *et al.*, 2022) evaluando la aplicación de bioestimulantes y *Bacillus* spp. en plantas de *C. chinense*. En cambio, Valdovinos-Nava *et al.*, (2020) reportaron valores de altura de planta por arriba de los 100 cm durante la evaluación de la aplicación de consorcios microbianos en el crecimiento de plantas de *C. chinense*, sin embargo, utilizaron contenedores de un mayor volumen (28 L) lo cual permitió un mayor desarrollo de las plantas, ya que el volumen del contenedor influye en el desarrollo radicular de las plantas y por ende en la longitud de las mismas (dos Santos Pessoa *et al.*, 2021).

Respecto a las variables agronómicas de los frutos, los tratamientos evaluados tuvieron un efecto significativo sobre el número de frutos por planta (Tabla 4.5), siendo el tratamiento B14 el que presentó el mayor número de frutos (5.80), en tanto que el tratamiento C presentó la menor cantidad de estos (1.50). Para las variables de diámetro ecuatorial, el diámetro polar y el peso de fruto no se presentaron diferencias, aunque en el caso del peso, los frutos del tratamiento C presentaron el menor peso (3.83 g). Estos parámetros se encuentran dentro de los valores normales para diámetro ecuatorial (25 a 46 mm), diámetro polar (29 a 60 mm) y peso (7 a 12 g) de frutos de chile habanero (Soares *et al.*, 2020).

Tabla 4.5. Variables agronómicas de los frutos de *C. chinense* con aplicación de fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713.

Tratamiento	No. Frutos	Diámetro ecuatorial [mm]	Diámetro polar [mm]	Peso [g]
C	1.50 c	22.12 a	40.70 a	3.83 a
L7	4.75 ab	27.02 a	43.02 a	5.61 a
L14	3.40 bc	27.90 a	42.03 a	5.38 a
B7	4.00 abc	26.92 a	42.98 a	5.91 a
B14	5.80 a	24.87 a	40.13 a	4.81 a
SN	3.50 abc	27.46 a	44.05 a	6.25 a

Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

En la Figura 4.9 se muestran las características de los frutos obtenidos de las plantas de *C. chinense* en cada uno de los tratamientos. Se observa que los frutos presentan características morfológicas similares. Con el tratamiento B14 se obtuvo la mayor cantidad de frutos por planta (Tabla 4.5), sin embargo, es posible notar que algunos frutos presentaron un menor tamaño, lo cual se debe a que la planta debe distribuir los nutrientes entre todos los frutos, provocando que estos sean más pequeños (Rather *et al.*, 2023).



Figura 4.9. Efecto de la aplicación de fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 en frutos *C. chinense*.

Es posible observar que, a pesar de no existir diferencias estadísticas entre la altura, el diámetro de tallo y el número de hojas entre los tratamientos L7, L14, B7, B14 y SN, los

valores más altos se presentan con los tratamientos que involucran la aplicación de fermentos. Este comportamiento es debido a que las BAL utilizadas para la producción de los BI generan metabolitos los cuales ayudan a descomponer la materia orgánica presente en el suelo permitiendo una liberación más rápida de nutrientes que son aprovechados por el crecimiento de la planta (Limanska *et al.*, 2013). Asimismo, estos microorganismos producen distintos compuestos que presentan propiedades antibacterianas, tales como ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas e incluso compuestos antifúngicos (Shrestha *et al.*, 2014).

La cepa *B. subtilis* es una bacteria común en la rizosfera y tiene la capacidad de incrementar el crecimiento de las plantas mediante la producción de fitohormonas, y también favorece el biocontrol de microorganismos patógenos y aumenta la resistencia a enfermedades (Mahapatra *et al.*, 2022). En tanto, la bacteria *L. acidophilus* LA-3 permite incrementar la solubilización de fósforo, la producción de ácido indolacético y síntesis de sideróforos, permitiendo un mejor desarrollo de raíces, ayudando al crecimiento y desarrollo de las plantas, además se inhibe el crecimiento de patógenos y mejora la salud de la planta (dos Santos *et al.*, 2020; Panetto *et al.*, 2023).

4.5.3 Contenido de biomasa en plantas de *C. chinense*

El contenido de biomasa fresca y seca de las plantas de chile habanero 90 DDT se presentan en la Tabla 4.6. Se observa que los tratamientos que involucran el uso de fermentos presentan el mayor contenido de biomasa fresca, siendo significativamente mayor en los tratamientos L7, L14 y B7 ($p \leq 0.05$), así mismo es posible notar que las plantas del tratamiento C son las que presentan menor contenido de biomasa fresca. Con respecto al contenido de biomasa seca, las plantas del tratamiento B14 fueron las que presentaron un mayor contenido respecto al resto de los tratamientos ($p \leq 0.05$), y de forma similar al contenido de biomasa fresca, las plantas del tratamiento C presentaron un menor contenido de biomasa seca (13.80 g/planta).

Tabla 4.6. Contenido de biomasa fresca y seca en plantas de chile habanero 90 DDT.

Tratamiento	Biomasa fresca [g/planta]	Biomasa seca [g/planta]
C	23.70 d	13.80 d
L7	112.90 a	48.10 ab
L14	114.50 a	48.30 ab
B7	114.90 a	47.10 bc
B14	108.20 b	49.40 a
SN	95.90 c	45.20 c

Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Valores similares fueron reportados por Luna-Fletes *et al.*, (2021) durante la aplicación de dos fertilizantes orgánicos líquidos en combinación con *Purpureocillium lilacinum* y *Beauveria brongniartii* en el crecimiento y calidad de plántulas de chile habanero; el mayor contenido de biomasa seca (47.27 g/planta) se presentó durante el tratamiento que involucró la combinación del fertilizante Pez Terra® y *P. lilacinum*. Por otra parte, Moreno-Salazar *et al.*, (2020), evaluaron la inoculación de plantas de chile habanero con *P. lilacinum* a diferentes concentraciones, y reportaron los mayores contenidos de biomasa fresca (63 g/planta) y biomasa seca (29 g/planta) utilizando una concentración de 1×10^8 esporas/mL.

Como se describió anteriormente, los fermentos conteniendo las cepas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 fueron las que mayores contenidos de biomasa fresca y seca presentaron, sin embargo, de estos dos parámetros la biomasa seca es el indicador más importante de crecimiento vegetal, así es posible establecer que el tratamiento B14 es el que mejor desempeño tuvo respecto al crecimiento de las plantas de chile habanero, y lo cual es consistente con los resultados discutidos previamente respecto a las variables agronómicas.

4.4.4 Contenido de capsaicina en frutos de *C. chinense*

En la Figura 4.10 se muestra el contenido de capsaicina de los frutos cosechados de las plantas para cada uno de los tratamientos, tanto en $\mu\text{g/mL}$ (Fig. 4.10a) como en unidades Scoville (Fig. 4.10b). Se observa que el contenido de este compuesto es mayor en las plantas

del tratamiento SN (32.89 $\mu\text{g/mL}$), presentando diferencias significativas con el resto de los tratamientos ($p \leq 0.05$), también es posible observar que el contenido de capsaicina en los frutos de los tratamientos que involucraron el uso de fermentos es similar, encontrándose en el rango de 26.84 a 30.00 $\mu\text{g/mL}$, presentándose el mayor contenido en los frutos del tratamiento B7. En tanto que los frutos del tratamiento C presentaron un menor contenido de capsaicina (19.21 $\mu\text{g/mL}$).

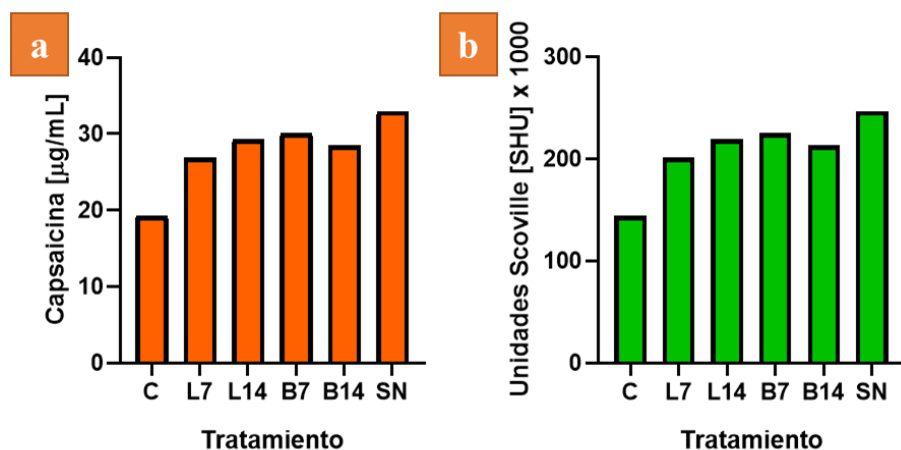


Figura 4.10. Contenido de capsaicina en los frutos de las plantas de *C. chinense* para cada uno de los tratamientos.

El contenido de capsaicina en los frutos de chile habanero se ve influenciada por diferentes factores, tales como el genotipo, el desarrollo del fruto y el medio ambiente (Aza-González *et al.*, 2011). La nutrición también juega un papel importante en el contenido de capsaicina, siendo los compuestos nitrogenados los que más influyen, así, cuando existen concentraciones altas de N, se presenta un mayor contenido de este capsaicinoide (Uarrota *et al.*, 2021). En el caso del tratamiento C al existir una disposición de nutrientes limitada, las plantas se encuentran bajo un estrés nutricional afectando la producción de capsaicina; la planta le da prioridad a su supervivencia.

Con respecto a los tratamientos en los que se aplicaron fermentos, los microorganismos probióticos actúan como promotores de crecimiento, mediante la producción de fitohormonas y la acidificación del medio, lo cual permite la solubilización de nutrientes y su posterior absorción (Glick, 2012), sin embargo, este proceso es más lento comparado con

lo que ocurre en el tratamiento SN, donde los nutrientes presentan una mayor disponibilidad y se absorben más rápido permitiendo la producción de más capsaicina.

4.6 Aplicación de fermentos en plántulas de caña de azúcar (*S. officinarum*)

4.6.1 Porcentaje de brotación de plántulas de caña de azúcar

En la Figura 4.11 se muestra el porcentaje de brotación (SP) de las plántulas de caña de azúcar para los tratamientos bajo estudio. Se observa que en las plántulas de los tratamientos C, LA y BS, los primeros brotes se dieron a partir de los 14 d, en tanto que para el tratamiento FC se presentaron hasta los 21 d. Valores similares fueron obtenidos por Taweengern *et al.*, (2024), al evaluar la aplicación de biochar e hidrochar en la germinación de yemas de caña de azúcar. Por otra parte, en los tratamientos FC, LA y BS a los 35 d se presentó el 100% de brotación de las yemas, mientras que para el tratamiento C solo se alcanzó un 75% de brotación. Los resultados son similares a los reportados por Leite *et al.*, (2023) quienes obtuvieron porcentajes de brotación del 90 al 94% durante la evaluación de fibras de caurnaba como sustrato para el crecimiento de plántulas de caña de azúcar, así como los obtenidos por Salgado-García *et al.*, (2019) reportan porcentajes de brotación del 94.4 al 97.2% de yemas de caña de azúcar encapsuladas con almidón, alginato de sodio y cloruro de calcio.

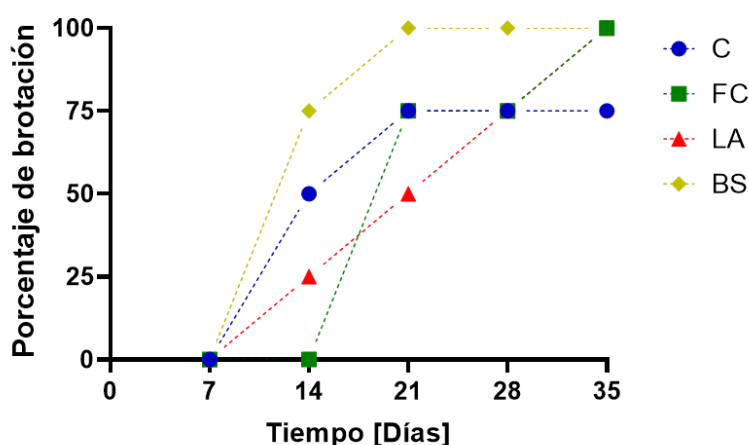


Figura 4.11. Porcentaje de brotación de las yemas de caña de azúcar con los diferentes tratamientos.

El bajo SP que se presentó en el tratamiento C se debió al bajo contenido de nutrientes del sustrato, principalmente fósforo, este nutriente es clave para el desarrollo de la planta en sus

etapas iniciales, sin embargo, se encuentra inmovilizado en el suelo, por lo cual no está disponible para su absorción, limitando el desarrollo de las plántulas de caña de azúcar (Aye *et al.*, 2021). En el resto de los tratamientos, parte del fósforo añadido como $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ permite un mejor desarrollo de las plántulas permitiendo alcanzar el 100% de brotación.

Además, en los tratamientos LA y BS la presencia de BAL, el pH ácido y metabolitos del proceso fermentativo, permiten la solubilización del fósforo, quedando disponible para su absorción (Francis *et al.*, 2010). Este comportamiento es más notorio en el tratamiento BS, donde a partir del día 21 ya se presenta el 100% de brotación de las yemas, lo cual se debe principalmente a que las bacterias del género *Bacillus* tienen la capacidad de excretar fitasas, las cuales son enzimas que hidrolizan el ácido fítico presente en el suelo, permitiendo absorber el P en su forma orgánica (El Ifa *et al.*, 2024).

4.6.2 Altura y parámetros cinéticos de crecimiento de plántulas

La altura de las plántulas de caña de azúcar se muestra en la Figura 4.12. A partir de los 20 d, la altura en los tratamientos C, LA y BS empieza a ser mayor que la del FC, principalmente por la brotación tardía de las yemas en este tratamiento (21 d). Al final del experimento, los valores de altura para los tratamientos C, FC, LA y BS fueron de 59.27, 48.74, 58.92 y 61.51 cm respectivamente, no existiendo diferencias significativas ($p > 0.05$). de Oliveira *et al.*, (2018) reportaron valores de altura de 60.36 a 71.43 cm, durante la evaluación de la aplicación de ácidos húmicos, bacterias promotoras de crecimiento de plantas y combinación de ambos tratamientos en el desarrollo de plántulas de caña de azúcar.

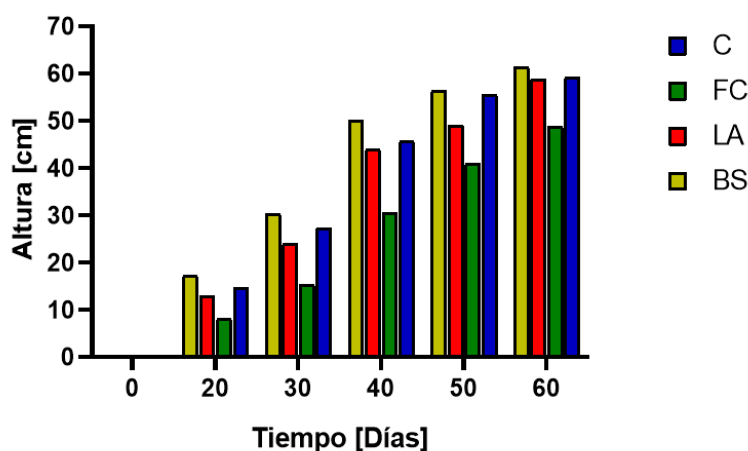


Figura 4.12. Altura de las plántulas de caña de azúcar para cada uno de los tratamientos.

Los valores estimados de los parámetros del modelo de Gompertz de 4 parámetros ajustado a los datos de altura de las plántulas de caña de azúcar se muestran en la Tabla 4.7. Se observa que las plántulas del tratamiento BS mostraron un mejor desarrollo al presentar el valor más alto de K (0.0705 cm/d) y el menor tiempo T_i (25.24 d), en tanto que en el tratamiento FC el desarrollo de las plántulas fue menor, teniendo una menor tasa de crecimiento (0.0541 cm/d) y un tiempo T_i mayor (35.18 d). Los valores de K mostrados en la Tabla 4.5, son mayores a los reportados por Jane *et al.*, (2020) quienes evaluaron el ajuste de diferentes modelos no lineales a datos de altura y diámetro de un cultivo de caña de azúcar de la variedad RB92579, y reportaron valores de K de 0.0159, 0.0086, 0.0006 y 0.0060 cm/d para los modelos Logístico, Gompertz, Brody y von Bertalanffy respectivamente.

Tabla 4.7. Parámetros estimados del modelo de Gompertz de 4 parámetros para la altura de las plántulas de los tratamientos C, FC, LA y BS.

Tratamiento	a [cm]	b [cm]	K [cm/d]	T_i [d]	R^2
C	66.84	0.1579	0.0687	26.97	0.996
FC	63.61	0.2661	0.0541	35.18	0.996
LA	67.61	0.0291	0.0613	28.90	0.991
BS	67.56	0.0329	0.0705	25.24	0.994

4.6.3 Numero de hojas y contenido de biomasa en plántulas de caña de azúcar

El número de hojas y contenido de biomasa en las plántulas de caña de azúcar se muestran en la Tabla 4.8. Respecto al número de hojas, el comportamiento fue similar al de la altura, los tratamientos LA y BS presentaron los valores más altos, 7.00 y 6.00 hojas por planta respectivamente, seguidas por las plántulas del tratamiento C (5.70 hojas por planta), en tanto que en el tratamiento FC se presentó la menor cantidad con 5.30 hojas por planta, y así mismo no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 4.8. Número de hojas y contenido de biomasa fresca y seca en plántulas de caña de azúcar 60 DDT.

Tratamiento	Número de hojas	Biomasa fresca [g/planta]	Biomasa seca [g/planta]
C	5.70	142.40	69.60
FC	5.30	148.40	67.40
LA	7.00	182.00	85.60
BS	6.00	159.20	62.00

En los cuatro tratamientos, el número de hojas se encuentra por arriba del valor normal de 5 hojas por planta para la etapa de plántula (Li, 2022), y son mayores a los reportados por de Oliveira *et al.*, (2018). 4.43 – 5.29 hojas por planta, durante la aplicación de ácidos húmicos, bacterias promotoras de crecimiento de plantas y combinación de ambos tratamientos en el desarrollo de plántulas de caña de azúcar.

En lo referente a la biomasa, se observa que el tratamiento LA presenta el mayor contenido de biomasa fresca, 182.00 g/planta, respecto al resto de los tratamientos ($p \leq 0.05$). Los tratamientos FC y BS presentaron contenidos de 148.40 y 159.20 g/planta respectivamente, no presentándose diferencias significativas ($p > 0.05$), mientras que para los tratamientos C (142.40 g/planta) y FC (148.40 g/planta) el contenido de biomasa fresca fue similar ($p > 0.05$). Para la biomasa seca, los tratamientos C, FC, LA y BS presentaron un contenido de 69.60, 67.40, 85.60 y 62.00 g/planta respectivamente, donde el contenido de biomasa seca en el tratamiento LA fue diferente al resto ($p > 0.05$).

Por otra parte, en la Figura 4.13a y 4.13b se observa que las plántulas de caña de azúcar de los tratamientos LA y BS presentan un mayor número de brotes, hojas más verdes y un sistema radicular más desarrollado, respecto al tratamiento C, y similar al tratamiento FC. El contenido de biomasa es un indicativo de la materia orgánica presente en las plantas y la cual es generada a través del proceso de fotosíntesis (Oñal Jr *et al.*, 2024), así al tener una planta más vigorosa y sana, se tiene una mayor generación de biomasa, que posteriormente se traduce en un mayor rendimiento del cultivo.

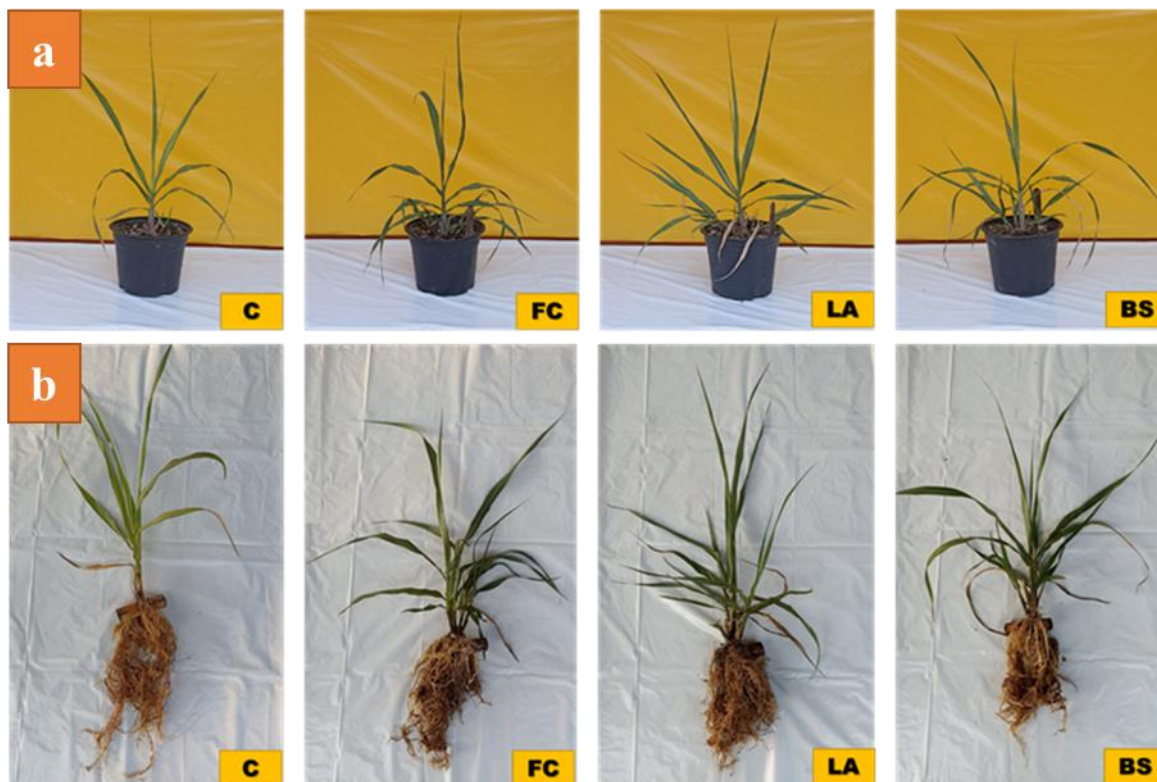


Figura 4.13. Efecto de la aplicación de los fermentos de *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 en a) plantas y b) partes aéreas y raíces de caña de azúcar a 60 DDT.

Los valores de biomasa obtenidos en el presente estudio son mayores a los reportados por Sánchez-Ramón *et al.*, (2024), quienes evaluaron la efectividad de aplicación de fertilizantes sintéticos y biol en el crecimiento y producción de biomasa de caña de azúcar, y reportaron un contenido máximo de 163.70 g/planta y 60.30 g/planta de biomasa fresca y seca respectivamente, en el tratamiento que involucró la aplicación de 1500 L/ha de biol. En otro estudio que evaluó la aplicación de diferentes dosis de torta de filtración, de Aquino *et al.*, (2018) reportaron un contenido máximo de biomasa seca en partes aéreas de 47.50 g/planta durante la aplicación de la dosis de 30 ton/ha de torta de filtración. Estas diferencias, se deben principalmente a que en el presente estudio se dio un efecto sinérgico entre los fermentos conteniendo cepas probióticas y los fertilizantes comerciales aplicados.

4.6.4 Impacto de la aplicación de los fermentos en las características fisicoquímicas del suelo

En la Tabla 4.9 se muestra la caracterización fisicoquímica del suelo antes y después de la aplicación de los tratamientos en plántulas de caña de azúcar. Es posible observar que el pH

del suelo era ácido debido al manejo agronómico y prácticas de monocultivo que se tenían, así que previo a la siembra de las yemas de caña de azúcar se aplicó cal dolomita a razón de 50 g/m² para ajustar el pH a un nivel favorable para el desarrollo de las plántulas, esta dosis se realizó en base a las recomendaciones del fabricante. Se observa que en los tratamientos C, FC, LA y BS se presentó un incremento en el pH con respecto al del suelo sin tratamiento, teniendo valores ligeramente alcalinos (C y LA) y neutro (BS), como resultado de la aplicación de cal agrícola. Sin embargo, en el tratamiento FC el pH muestra una tendencia ácida debido a la aplicación de una mayor cantidad de (NH₄)₂HPO₄ y (NH₄)₂SO₄, ya que los fertilizantes nitrogenados y fosforados contribuyen de manera significativa a incrementar la acidez del suelo (McFarland *et al.*, 2024), a pesar de esto, no se presentaron diferencias significativas en el pH de los cuatro tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 4.9. Caracterización fisicoquímica del suelo antes y después de la aplicación de los tratamientos.

Parámetro [Unidad]	Tratamiento				
	Suelo	C	FC	LA	BS
pH [-]	5.00 b	7.67 a	6.72 a	7.39 a	7.08 a
Conductividad eléctrica [dS/m]	0.055 d	0.195 cd	1.602 a	0.444 c	0.761 b
Materia orgánica [%]	4.48 a	2.80 b	2.97 b	3.12 b	2.71 b
Nitrógeno total [%]	0.135 a	0.122 a	0.126 a	0.132 a	0.118 a
Fósforo asimilable [mg/kg]	13.49 c	16.60 c	336.80 a	157.20 b	181.00 b
Potasio [mg/kg]	286.65 c	117.78 d	786.24 a	515.97 b	597.10 b

Medias en la misma fila seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

En cuanto al parámetro de conductividad eléctrica (CE), se observa un incremento en los cuatro tratamientos, respecto al valor inicial del suelo (0.055 dS/m), siendo más notable en el tratamiento FC ($p \leq 0.05$). La baja CE del suelo utilizado como sustrato, se debe a la poca profundidad de estos, lo cual genera una mayor lixiviación de sales por efecto de la lluvia y actividades de riego agrícola (Cebada-Merino *et al.*, 2024), además, en el sitio de muestreo del suelo en los últimos años se redujo la aplicación de fertilizantes, disminuyendo el contenido de sales disueltas. De acuerdo a la NOM-001-RECNAT-2000 los valores de CE

indican que los efectos de la salinidad se consideran despreciables en los suelos de los tratamientos C, LA y BS, mientras que en el tratamiento FC, el suelo puede considerarse ligeramente salino. Lo anterior explica la baja tasa de crecimiento de las plantas en este tratamiento, ya que el aumento de la salinidad del suelo limita el crecimiento, disminuye la productividad e incluso puede provocar la muerte de las mismas (Safdar *et al.*, 2019).

En lo que respecta al contenido de materia orgánica (MO), se observa que el suelo presenta un alto contenido previo a la aplicación de los tratamientos, debido principalmente a la presencia de restos de cultivo y maleza seca, los cuales incrementan la MO presente en el suelo (Kumari *et al.*, 2019), posteriormente, disminuye en todos los tratamientos no presentándose diferencias significativas entre estos ($p > 0.05$) y de acuerdo a la NOM-001-RECNAT-2000, el contenido de MO se considera como moderadamente alto. La disminución de MO se debe principalmente a la descomposición por acción de los microorganismos nativos del suelo (tratamientos C y FC) y los microorganismos probióticos de los fermentos aplicados (tratamientos LA y BS). Tanto los microorganismos nativos como los microorganismos probióticos utilizan la materia orgánica como fuente de carbono, y durante su degradación permiten la liberación de compuestos que son benéficos para el desarrollo de las plantas (Bhattacharyya *et al.*, 2022).

En el caso del N, no se presentaron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos ($p > 0.05$), aunque se observa una ligera disminución respecto al contenido inicial del suelo, la cual se atribuye a la absorción por parte de las plántulas de caña de azúcar y pérdidas por volatilización. Para el contenido de P y K, las diferencias fueron significativas ($p \leq 0.05$), presentándose un mayor contenido de ambos nutrientes en el tratamiento FC debido a la aplicación de una mayor cantidad de fertilizante, sin embargo, a pesar de que en los tratamientos LA y BS se aplicó solo el 25% de fertilizante, el contenido de P y K de acuerdo a la NOM-001-RECNAT-2000 se considera alto. De acuerdo a estos resultados, es posible afirmar que la aplicación de fermentos con los microorganismos probióticos en los tratamientos LA y BS no provocan un exceso de nutrientes en el suelo. Lo anterior es importante ya que un excedente de nutrientes puede provocar efectos negativos en el medio ambiente como incremento de nitratos en aguas subterráneas, y un mayor riesgo de eutrofización (Sanchez *et al.*, 2024).

4.7 Análisis del mecanismo de transferencia de nutrientes

En la Figura 4.14 se presenta un esquema del mecanismo mediante el cual se explica cómo los fermentos conteniendo microorganismos probióticos permiten un mejor desarrollo de las plántulas de *C. chinense* y *S. officinarum*. En las plántulas de chile habanero, los tratamientos que contenían la cepa *B. subtilis* QS-713 presentaron un mayor contenido de biomasa seca y mayor número de frutos, además también el contenido de capsaicina fue ligeramente menor al del tratamiento con SN.

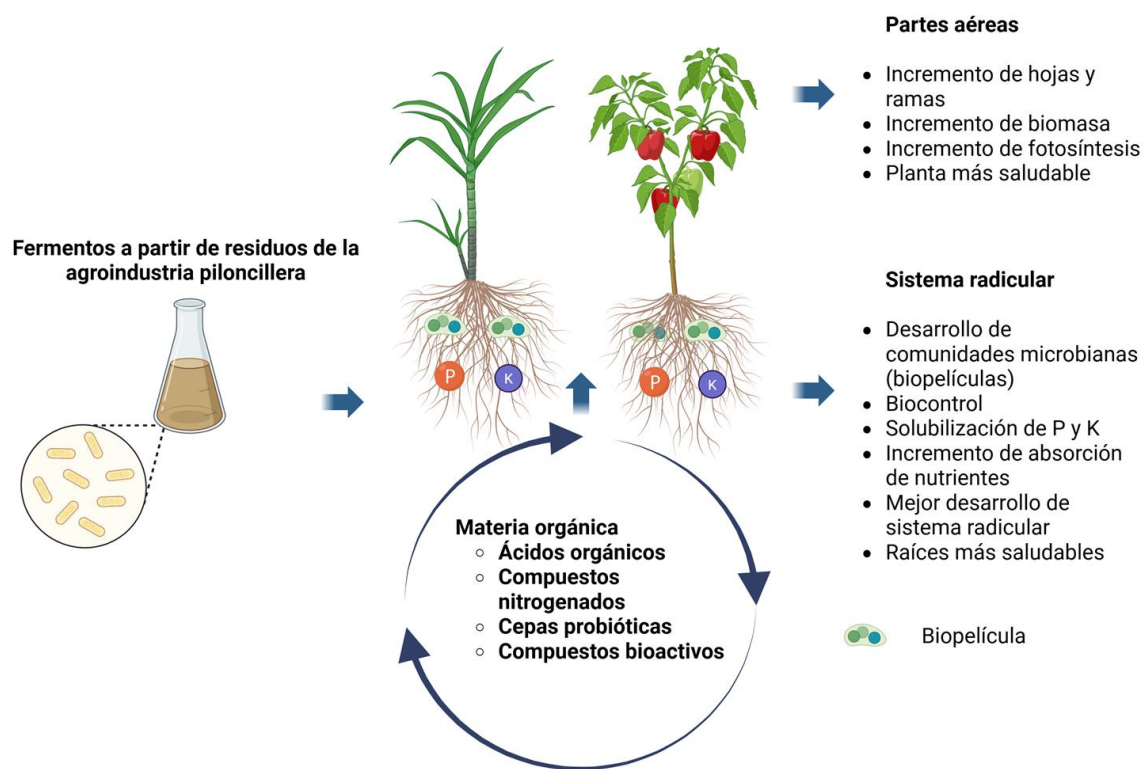


Figura 4.14. Esquema del mecanismo de transferencia de nutrientes en plántulas de chile habanero y caña de azúcar.

En las plántulas de caña de azúcar, los tratamientos LA y BS, que contenían las cepas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713 se observó una mayor altura y número de hojas respecto al tratamiento FC, y lo anterior también se reflejó en un mayor contenido de biomasa. Este parámetro es un indicativo de la materia orgánica presente en las plantas y que es generada a través del proceso de fotosíntesis (Oñal Jr *et al.*, 2024), así al tener una planta más vigorosa y sana, se tiene una mayor generación de biomasa.

Los microorganismos como el *L. acidophilus* LA-3 y el *B. subtilis* QS-713 tienen la capacidad de producir diferentes compuestos bioactivos, así como ácidos orgánicos. Existe evidencia que la cepa *L. acidophilus* produce hormonas como las citocinas que estimulan el desarrollo y crecimiento de plantas como el tomate y el trigo (Hamed *et al.*, 2011; Mohite *et al.*, 2013; Lamont *et al.*, 2017), en tanto que la cepa *B. subtilis* también produce citocinas, además de auxinas y expansina que contribuyen al desarrollo de especies vegetales (Mahapatra *et al.*, 2022). Otro metabolito generado es el AL, el cual sirve como fuente de carbono para los microorganismos presentes en el suelo, permitiendo la formación de biopelículas en las raíces (Chen *et al.*, 2023), también se ha demostrado que el AL inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos, generando un efecto de biocontrol, además este ácido solubiliza el fósforo y el potasio, permitiendo su disponibilidad para la planta (Jaffar *et al.*, 2023). Lo anterior permite tener raíces más sanas y un mejor desarrollo del sistema radicular, y por ende una mejor absorción de los nutrientes y un impacto positivo en el desarrollo de las partes aéreas (Berg *et al.*, 2020; Pylak *et al.*, 2019).

Otro aspecto importante dentro del mecanismo de transferencia de nutrientes, es el referente al uso de la CP como sustrato en el proceso fermentativo, este residuo contiene micronutrientes y nutrientes secundarios como Ca, Mg, Fe, Cu, Zn y Mn, los cuales son de gran importancia para el desarrollo de los cultivos de caña de azúcar y chile habanero (Kingston, 2013; da Silva Magalhães *et al.*, 2023). Inicialmente, estos micronutrientes son utilizados por los microorganismos probióticos como parte de su metabolismo durante el proceso fermentativo (Yeboah *et al.*, 2023), después, los remanentes de estos micronutrientes se conservan en el fermento y al momento de su aplicación son aprovechados por las plántulas para su desarrollo. Algunos estudios han descrito los beneficios de la aplicación de la CP en cultivos agrícolas, así Crusciol *et al.*, (2021) concluyeron que la aplicación de CP incrementó la concentración foliar de los nutrientes B, Cu, Zn y Mo en plantas de caña de azúcar, así mismo se observó un efecto positivo en el rendimiento de tallos y contenido de azúcar.

4.8 Enfoque de economía circular para la agroindustria piloncillera

En la producción de piloncillo, el principal problema con los residuos como las CP y el ALM es el alto contenido de azúcares, principalmente en la CP, cuyo contenido es de alrededor de

180 g/L, y que al disponerse de forma inadecuada se presentan graves problemas de contaminación ambiental (Hernández-Martínez *et al.*, 2024; Mendieta *et al.*, 2020b); así mismo, estos azúcares representan una pérdida económica para los productores de piloncillo, ya que son azúcares que no se aprovechan para la fabricación del edulcorante. La mayor parte de los productores no se interesan por tratar los residuos porque les representa un costo extra en su proceso productivo, y en otros casos no cuentan con el acceso a información sobre estrategias para su aprovechamiento (Aguilar-Rivera & Olvera-Vargas, 2021).

Con la implementación del proceso de fermentación anaerobia con microorganismos probióticos, se estaría planteando una estrategia de economía circular (EC) al valorizar la CP y el ALM generados durante la producción de piloncillo, ya que se les estaría dando un nuevo uso al producir fermentos ricos en metabolitos, nutrientes y microorganismos probióticos que al ser aplicados en cultivos como el chile habanero y la caña de azúcar bioestimulan su crecimiento, sin presentarse efectos fitotóxicos (Fig. 4.15).

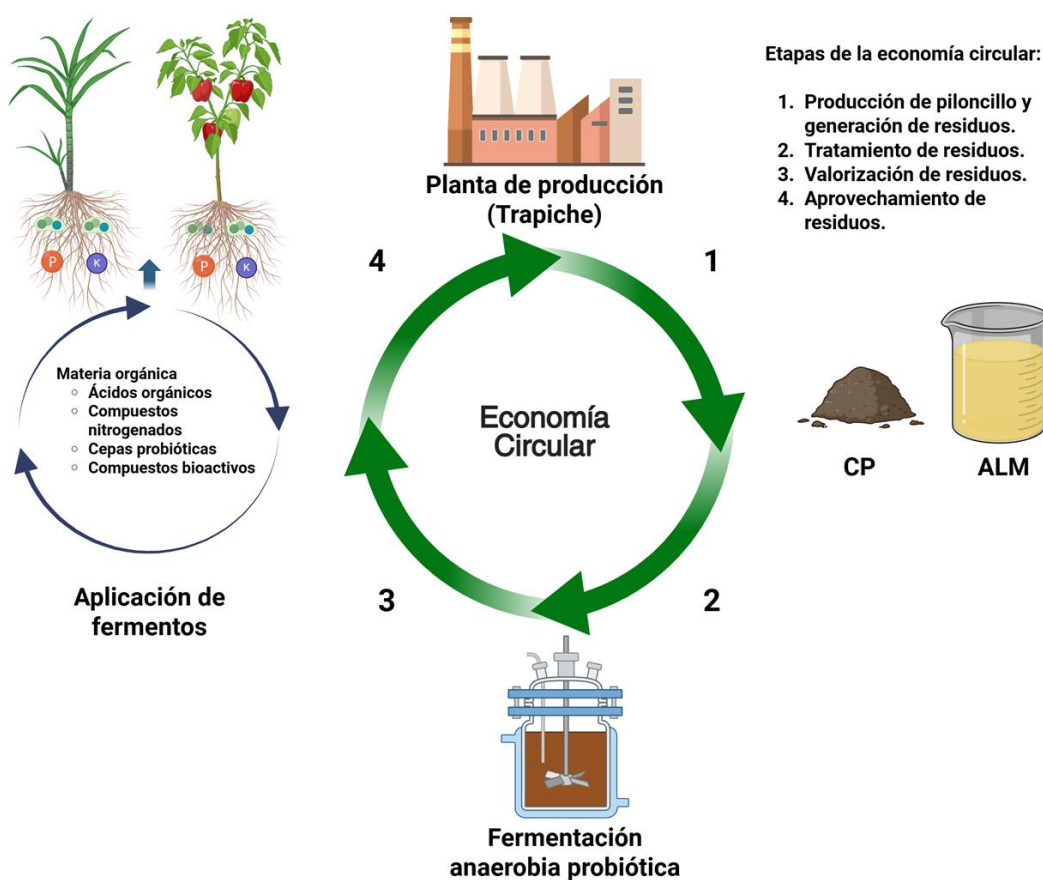


Figura 4.15. Enfoque de la Economía Circular aplicado a la agroindustria piloncillera.

Al utilizar los fermentos como bioestimulantes, se reduce la aplicación de fertilizantes químicos, disminuyendo los costos asociados a su aplicación y minimizando el impacto negativo en la salud del suelo. El enfoque planteado permitiría incrementar la sostenibilidad ambiental de la agroindustria piloncillera, ya que se reduce la contaminación que se podría generar por desechar la CP y el ALM sin tratamiento, y los microorganismos probióticos contenidos en los fermentos mejorarían las propiedades del suelo.

Conclusiones

La caracterización fisicoquímica de los residuos de la agroindustria piloncillera, CP y ALM, mostró que estos presentan nutrientes y sobre todo un alto contenido de carbohidratos, en especial la CP, lo cual los hace viables como sustratos para llevar a cabo la fermentación anaerobia con microorganismos probióticos. Así mismo, la CP presentó un alto contenido de ST (>20%), lo cual limita su uso directo en el proceso fermentativo, por lo que fue necesario realizar una dilución utilizando el ALM como diluyente. A partir de estas diluciones se prepararon soluciones con diferente concentración de CP (50, 100 y 150 g CP/L) y en las cuales el contenido de ST se ajustó en el rango de 3 a 6%.

En la fermentación de las soluciones de CP con ambos microorganismos, durante las primeras horas se presentó una reducción del pH, indicando la producción de ácidos orgánicos. La mayor acidificación del medio se presentó con el *L. acidophilus* LA-3, mostrando una mejor adaptación a las soluciones al presentarse un mayor consumo de sustrato en menor tiempo (48 h) comparado con la cepa *B. subtilis* QS-713 (72 h). En cuanto a la producción de biomasa y contenido proteico, el comportamiento fue similar, presentándose el mayor contenido de biomasa y proteínas en la solución de 150 g CP/L (23.19%). Sin embargo, en las fermentaciones con *B. subtilis* QS-713 se presentó una mayor producción de ácido láctico, 17.10 g AL/L para la solución de 150 g CP/L. Estas diferencias se atribuyen a la velocidad de fermentación con cada cepa, con *L. acidophilus* LA-3 la fermentación fue más rápida, en tanto que con *B. subtilis* QS-713 fue más lenta.

Se obtuvieron los parámetros cinéticos de densidad celular de ambos microorganismos, utilizando el modelo de Gompertz de 4 parámetros. Se observó que la cepa *B. subtilis* QS-713 presentó un tiempo de acondicionamiento menor (1.058 h), sin embargo, la tasa de crecimiento fue mayor para la cepa *L. acidophilus* LA-3 (0.678 h⁻¹). Ambos valores confirman que ambas cepas se adaptaron de forma adecuada al medio, pero conforme avanza el proceso la cepa *B. subtilis* QS-713 no encontró condiciones adecuadas para su desarrollo y por ende su tasa de crecimiento resultó afectada.

La caracterización fisicoquímica de los fermentos muestra que estos presentan un contenido aceptable de nutrientes como nitrógeno y carbono (carbohidratos residuales), y la presencia

de las especies probióticas *L. acidophilus* LA-3 y *B. subtilis* QS-713, lo cual les confiere características para ser aprovechados como bioestimulantes de crecimiento vegetal. Sin embargo, previo a su aplicación se recomienda realizar pruebas de toxicidad, ya que la respuesta de cada cultivo es diferente.

Se realizó la aplicación de los fermentos en plántulas de *C. chinense*, y se evaluó su efecto en la germinación de semillas y desarrollo de las plántulas. De acuerdo a las pruebas de germinación de semillas, se observó que cuando los fermentos se aplican en concentraciones mayores al 10%, se presentan efectos fitotóxicos limitando el posterior desarrollo de la planta. Las plántulas de los tratamientos en los que se aplicaron los fermentos al 10% presentaron los valores más altos en las diferentes variables agronómicas evaluadas: altura, diámetro de tallo, número de hojas por planta, número de frutos por planta, biomasa fresca y seca. En cuanto al contenido de capsaicina, este fue mayor en las plantas bajo el tratamiento que involucró la aplicación de una solución nutritiva (32.89 µg/mL), sin embargo, los frutos de las plantas con aplicación de fermentos presentaron un contenido ligeramente menor (26.84 – 30.00 µg/mL).

Los fermentos también se aplicaron en plántulas de caña de azúcar y se evaluó su efecto bioestimulante. Las plántulas del tratamiento BS germinaron al 100% en un menor tiempo, así mismo, en los tratamientos LA y BS las plántulas presentaron una mayor altura y un mayor número de hojas respecto al tratamiento FC, así como un mayor contenido de biomasa, mayor número de brotes y un mejor desarrollo radicular, lo cual indica que los fermentos producen un efecto bioestimulante que promueve el desarrollo de las plántulas de caña de azúcar. En cuanto a las características fisicoquímicas del suelo, no se observan efectos significativos de los tratamientos estudiados, sin embargo, en el tratamiento FC hubo un incremento de la EC, así como una disminución del pH, indicando un proceso de salinización y acidificación debido a la aplicación de una mayor cantidad de fertilizante comercial.

En base a estos resultados, es posible concluir que la fermentación anaerobia es una alternativa viable para el tratamiento de los residuos de la agroindustria piloncillera, ya que permite su tratamiento, lo cual disminuye su impacto al medio ambiente, su valorización mediante la producción de metabolitos de interés como ácido láctico y biomasa proteica, y su aprovechamiento mediante la aplicación de los fermentos en cultivos de interés para la

agroindustria piloncillera sin generar efectos fitotóxicos en las plantas y en el suelo. Así mismo, el proceso fermentativo con microorganismos probióticos se plantea como una estrategia de economía circular permitiendo promover la sostenibilidad económica y ambiental de la agroindustria piloncillera la cual requiere de estrategias innovadoras para su desarrollo económico y tecnológico.

Recomendaciones

Utilizar un residuo rico en nitrógeno y que sea fácil de obtener en la región, por ejemplo, suero de leche y pollinaza, para llevar a cabo una cofermentación con los residuos de la agroindustria piloncillera, ya que como se observó en los resultados la producción de ácido láctico se encontró por debajo de los valores reportados en otros estudios debido principalmente al bajo contenido de nitrógeno en la CP y el ALM.

Incrementar la concentración de la solución de CP en valores mayores a 150 g CP/L con el fin de evaluar el comportamiento de las cepas probióticas estudiadas y los parámetros de operación del proceso fermentativo. También resultaría viable evaluar el desempeño de otras cepas probióticas como: *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*, y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. También se recomienda operar el proceso de fermentación en modo semicontinuo para evaluar el efecto de la carga orgánica y el tiempo de residencia hidráulico en la densidad celular, la producción de ácido láctico y biomasa proteica.

Realizar la optimización de las condiciones de operación del proceso de manera que se maximice la producción de los metabolitos de interés. Así mismo, se recomienda realizar la aplicación de los fermentos en otras especies agrícolas de interés para la agroindustria piloncillera para promover la rotación del cultivo de caña de azúcar y diversificar sus ingresos. Realizar el escalamiento de la aplicación de los fermentos a nivel de campo.

Con el fin de fundamentar la viabilidad del proceso de fermentación, resultaría de utilidad la elaboración de un análisis tecno-económico del mismo, que permita tener una visión más amplia del beneficio económico y ambiental para la agroindustria piloncillera. También resultaría adecuado difundir los resultados del presente estudio con los productores de piloncillo, o bien con representantes de la agroindustria para intercambiar ideas y permitir la implementación del proceso en los centros de producción.

Referencias Bibliográficas

- Abdel-Rahman, M. A., & Sonomoto, K. (2016). Opportunities to overcome the current limitations and challenges for efficient microbial production of optically pure lactic acid. *Journal of Biotechnology*, 236, 176-192. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.08.008>
- Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production–producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>
- Abid, M., Wu, J., Seyedsalehi, M., Hu, Y. Y., & Tian, G. (2021). Novel insights of impacts of solid content on high solid anaerobic digestion of cow manure: Kinetics and microbial community dynamics. *Bioresource technology*, 333, 125205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125205>
- Aguilar-Rivera, N., & Olvera-Vargas, L. A. (2021). Innovations for Sustainable Production of Traditional and Artisan Unrefined Non-Centrifugal Cane Sugar in Mexico. In: Leal Filho, W., Krasnov, E.V., Gaeva, D.V. (eds) *Innovations and Traditions for Sustainable Development. World Sustainability Series*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78825-4_19
- Ahmad, A., Banat, F., & Taher, H. (2020). A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101138. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101138>
- Ahmad, A., Othman, I., Taher, H., & Banat, F. (2021). Lactic acid recovery from date pulp waste fermentation broth by ions exchange resins. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101438. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101438>
- Ahmadi-Pirlou, M., & Mesri Gundoshmian, T. (2021). The effect of substrate ratio and total solids on biogas production from anaerobic co-digestion of municipal solid waste and sewage sludge. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 23(5), 1938-1946. <https://doi.org/10.1007/s10163-021-01264-x>

- Aita, G., Bhatnagar, D., Bruni, G. O., Deliberto, M., Eggleston, G., Finger, A., Gravois, K., Isied, M., Judice, W., Klasson, K.T., Lima, I.M., Purswell, J.L., Souliman, M., Terrel, E., Tubaña, B.S., Waguespack Jr., H.L., Wang, J.J., & White Jr, P. M. (2024). Creating a bio-based circular economy from Louisiana sugarcane byproducts. *Agricultural & Environmental Letters*, 9(2), e20140. <https://doi.org/10.1002/ael2.20140>
- Allouzi, M. M. A., Allouzi, S. M. A., Keng, Z. X., Supramaniam, C. V., Singh, A., & Chong, S. (2022). Liquid biofertilizers as a sustainable solution for agriculture. *Heliyon*, 8(12). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12609>
- 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(2), 105136. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105136>
- Andreev, N., Ronteltap, M., Boincean, B., Wernli, M., Zubcov, E., Bagrin, N., Borodin, N., & Lens, P. N. (2017). Lactic acid fermentation of human urine to improve its fertilizing value and reduce odour emissions. *Journal of environmental management*, 198, 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.059>
- APHA, WPCF, AWWA (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 23rd edn. Washington, USA.
- Arsène, M. M., Davares, A. K., Andreevna, S. L., Vladimirovich, E. A., Carime, B. Z., Marouf, R., & Khelifi, I. (2021). The use of probiotics in animal feeding for safe production and as potential alternatives to antibiotics. *Veterinary world*, 14(2), 319. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.319-328>
- Ataei, P., Karimi, H., Klöckner, C. A., Es'haghi, S. R., & Zarei, R. (2022). The promotion of biofertilizer application on farms: Farmers' intentional processes. *Environmental Technology & Innovation*, 28, 102722. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102722>
- Aye, P. P., Pinjai, P., & Tawornpruek, S. (2021). Effect of phosphorus solubilizing bacteria on soil available phosphorus and growth and yield of sugarcane. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 18(12), 10754-9. <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.10754>

- Aza-González, C., Núñez-Palenius, H. G., & Ochoa-Alejo, N. (2011). Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant cell reports*, 30(5), 695-706. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0968-8>
- Azelee, N.I.W., Manas, N.H.A., Dailin, D.J., Ramli, A.N.M., & Shaarani, S.M. (2020). Biological Treatment of Agro-Industrial Waste. In: Zakaria, Z., Boopathy, R., Dib, J. (eds) *Valorisation of Agro-industrial Residues – Volume I: Biological Approaches. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39137-9_3
- Bagur-González, M. G., Estepa-Molina, C., Martín-Peinado, F., & Morales-Ruano, S. (2011). Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of soils and sediments*, 11(2), 281-289. <https://doi.org/10.1007/s11368-010-0285-4>
- Baltaci, S. F., & Hamamci, H. (2020). Enzymatic hydrolysis of orange bagasse and effect of filtration on lactic acid fermentation. *SN Applied Sciences*, 2(4), 605. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2421-0>
- Bayer (2024) Serenade ASO. https://www.micultivo.bayer.com.mx/es-mx/productos/product-details.html/fungicides/serenade_aso.html. Consultado 20 de agosto de 2024.
- Behzadnia, A., Moosavi-Nasab, M., & Tiwari, B. K. (2019). Stimulation of biosurfactant production by *Lactobacillus plantarum* using ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 59, 104724. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104724>
- Bellotti, G., Taskin, E., Sello, S., Sudiro, C., Bortolaso, R., Bandini, F., Guerrieri, M. C., Cocconcelli, P. S., Vuolo, F., & Puglisi, E. (2022). LABs Fermentation Side-Product Positively Influences Rhizosphere and Plant Growth in Greenhouse Lettuce and Tomatoes. *Land*, 11(9), 1544. <https://doi.org/10.3390/land11091544>
- Berg, S., Dennis, P. G., Paungfoo-Lonhienne, C., Anderson, J., Robinson, N., Brackin, R., Royle, A., DiBella, L., & Schmidt, S. (2020). Effects of commercial microbial

- biostimulants on soil and root microbial communities and sugarcane yield. *Biology and Fertility of Soils*, 56(4), 565-580. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01412-4>
- Bergsma, S., Euverink, G. J. W., Charalampogiannis, N., Poullos, E., Janssens, T. K., & Achinas, S. (2022). Biotechnological and medical aspects of lactic acid bacteria used for plant protection: A comprehensive review. *BioTech*, 11(3), 40. <https://doi.org/10.3390/biotech11030040>
- Bhattacharyya, S. S., Ros, G. H., Furtak, K., Iqbal, H. M., & Parra-Saldívar, R. (2022). Soil carbon sequestration—An interplay between soil microbial community and soil organic matter dynamics. *Science of the Total Environment*, 815, 152928. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152928>
- Bouallagui, H., Marouani, L., & Hamdi, M. (2010). Performances comparison between laboratory and full-scale anaerobic digesters treating a mixture of primary and waste activated sludge. *Resources, Conservation and Recycling*, 55(1), 29-33. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2010.06.012>
- Caballero, P., Rodriguez-Morgado, B., Macias, S., Tejada, M., & Parrado, J. (2020). Obtaining plant and soil biostimulants by waste whey fermentation. *Waste and Biomass Valorization*, 11(7), 3281-3292. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00660-7>
- Cabrera Martínez, H. (2017). Análisis de factores de competitividad de la agroindustria del piloncillo en la región centro de Veracruz. Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana.
- Cabrera-Martínez, H., & Aguilar-Rivera, N. (2019). Competitividad de la agroindustria del piloncillo en la zona central de Veracruz. *Textual*, 73, 297–330. <https://doi.org/10.5154/r.textual.2018.73.09>.
- Calderón Vargas, J. F. (2017). Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de *Lactobacillus Acidophilus* en la fermentación de sustrato complejo. Tesis de Licenciatura. Universidad de América.
- Carrillo-Nieves, D., Alanís, M. J. R., de la Cruz Quiroz, R., Ruiz, H. A., Iqbal, H. M., & Parra-Saldívar, R. (2019). Current status and future trends of bioethanol production

- from agro-industrial wastes in Mexico. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 102, 63-74. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.031>
- Castells, A., Leon, A., Sosa, D., Cadena, I., Ramirez, D., Serrano, L., Larrea, F., Almeida-Streitweiser, D., & Alvarez-Barreto, J. (2022). Evaluation of lactic acid production by different *Bacillus subtilis* strains isolated from *Theobroma cacao* crops in Ecuador. *Chemical Engineering Transactions*, 93, 55-60. <https://doi.org/10.3303/CET2293010>
- Cebada-Merino, M., Crescencio-Andrade, Y., Serna-Lagunes, R., Del Rosario-Arellano, J. L., Andrés-Meza, P., Presa-Parra, E., Hernández-Salinas, G., Díaz-José, J., & Leyva-Ovalle, O. R. (2024). Modelación de las características edafológicas de un predio destinado al cultivo de caña de azúcar en Veracruz, México. *Revista de Geografía Agrícola*, (72), 1-16. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2023.72.9>
- Chasoy, G. R., Chairez, I., & Durán-Páramo, E. (2020). Carbon/nitrogen ratio and initial pH effects on the optimization of lactic acid production by *Lactobacillus casei* subsp *casei* NRRL-441. *Carbon*, 27(10), 37-59.
- Chen, W., He, P., Zhang, H., Duan, H., Shao, L., & Lü, F. (2023). The low dose of L-lactic acid as loess soil amendment enhances wheat rhizosphere microecosystem. *Rhizosphere*, 28, 100784. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100784>
- Chenebault, C., Moscoviz, R., Trably, E., Escudié, R., & Percheron, B. (2022). Lactic acid production from food waste using a microbial consortium: Focus on key parameters for process upscaling and fermentation residues valorization. *Bioresource Technology*, 354, 127230. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127230>
- Chew, K. W., Chia, S. R., Yen, H. W., Nomanbhay, S., Ho, Y. C., & Show, P. L. (2019). Transformation of biomass waste into sustainable organic fertilizers. *Sustainability*, 11(8), 2266. <https://doi.org/10.3390/su11082266>
- Chhetri, R.K., Aryal, N., Kharel, S., Poudel, R.C., & Pant, D. (2020) Agro-based industrial wastes as potent sources of alternative energy and organic fertilizers. In: Kataki R, Pandey A, Khanal SK (eds) *Current developments in biotechnology and bioengineering*, Elsevier, Amsterdam, 121-136. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64309-4.00005-2>

- Ciani, M., Comitini, F., & Mannazzu, I. (2008). Fermentation. In: Jorgensen, S.E., & Fath, B.D. (eds) Encyclopedia of Ecology. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00272-X>
- CONADESUCA. (2015a). Ficha técnica del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha Tcnica Ca a de Azucar.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha_Tecnica_Ca_a_de_Azucar.pdf). Consultado 10 de septiembre de 2025.
- CONADESUCA. (2015b). Boletín técnico Nutrición del cultivo de caña de azúcar y uso eficiente de fertilizantes. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/114366/Boletin Tecnico Informativo Octubre 2015.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/114366/Boletin_Tecnico_Informativo_Octubre_2015.pdf). Consultado 02 de septiembre de 2024.
- Crusciol, C. A. C., McCray, J. M., de Campos, M., do Nascimento, C. A. C., Rossato, O. B., Adorna, J. C., & Mellis, E. V. (2021). Filter cake as a long-standing source of micronutrients for sugarcane. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21(1), 813-823. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00403-x>
- da Silva Magalhães, D., Viegas, I. D. J. M., da Silva Barata, H., Costa, M. G., da Silva, B. C., & de Lima Mera, W. Y. W. (2023). Deficiencies of nitrogen, calcium, and micronutrients are the most limiting factors for growth and yield of smell pepper plants1. Revista Ceres, 70(3), 125-135. <https://doi.org/10.1590/0034-737X202370030013>
- de Aquino, G. S., dos Santos, J. G. S., Diniz, T. G., de Conti Medina, C., Rosseto, R., & Moreira, A. (2018). Development of pre-sprouted seedlings (PSS) of sugarcane under different amounts of filter cake and application modes. Semina: Ciências Agrárias, 39(5), 1899-1908. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n5p1899>
- De Groof, V., Coma, M., Arnot, T., Leak, D. J., & Lanham, A. B. (2021). Selecting fermentation products for food waste valorisation with HRT and OLR as the key operational parameters. Waste Management, 127, 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.04.023>

- de Matos Nascimento, A., Maciel, A. M., Silva, J. B. G., Mendonça, H. V., de Paula, V. R., & Otenio, M. H. (2020). Biofertilizer application on corn (*Zea mays*) increases the productivity and quality of the crop without causing environmental damage. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231(8), 414. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04778-6>
- de Mendonça, H. V., Martins, C. E., da Rocha, W. S. D., Borges, C. A. V., Ometto, J. P. H. B., & Otenio, M. H. (2018). Biofertilizer replace urea as a source of nitrogen for sugarcane production. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(7), 216. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3874-2>
- de Oliveira, H. P., de Melo, R. O., Baldotto, M. A., Andrade, M. A., & Baldotto, L. E. B. (2018). Performance of pre-sprouted sugarcane seedlings in response to the application of humic acid and plant growth-promoting bacteria. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(3), 1365-1370. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n3p1365>
- de Souza, E.L., de Oliveira, K.Á., & de Oliveira, M.E. (2023) Influence of lactic acid bacteria metabolites on physical and chemical food properties. *Current Opinion in Food Science* 49, 100981. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100981>
- dos Santos Pessoa, A. M., do Rêgo, E. R., da Silva, G. P., de Lima, J. A. M., dos Santos Silva, B. R., & do Rêgo, M. M. (2021). Development of *Datura metel* in different pot sizes. *Research, Society and Development*, 10(5), e6410513276-e6410513276. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.13276>
- dos Santos, A. C., Kandasamy, S., & Rigobelo, E. C. (2020). *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Succinovibrio dextrinosolvens* promoting the growth of maize and soybean plants. *African Journal of Microbiology Research*, 14(5), 189-197. <https://doi.org/10.5897/AJMR2020.9322>
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, 196, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Du, Y. H., Wang, M. Y., Yang, L. H., Tong, L. L., Guo, D. S., & Ji, X. J. (2022). Optimization and scale-up of fermentation processes driven by models. *Bioengineering*, 9(9), 473. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9090473>

- El Ifa, W., Belgaroui, N., Sayahi, N., Ghazala, I., & Hanin, M. (2024). Phytase-producing rhizobacteria enhance barley growth and phosphate nutrition. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1432599. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1432599>
- Escobar Carrera, X. I. (2019). Diseño del proceso de bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de la agricultura. Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València.
- Esser, D. S., Leveau, J. H., & Meyer, K. M. (2015). Modeling microbial growth and dynamics. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(21), 8831-8846. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6877-6>
- Estrada-García, J., Díaz-González, I., Hernández-Aguilar, E., & Méndez-Contreras, J.M. (2025) Anaerobic biotransformation process of lignocellulosic waste with *Lactobacillus casei* and *Bacillus subtilis* and its effect on the physicochemical parameters case of study: craft brewers' spent grains. *Biomass Conversion and Biorefinery* 15(4), 5673-5687. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05351-5>
- Estrada-García, J., Hernández-Aguilar, E., Romero-Mota, D. I., & Méndez-Contreras, J. M. (2023). Influence of anaerobic biotransformation process of agro-industrial waste with *Lactobacillus acidophilus* on the rheological parameters: case of study of pig manure. *Archives of Microbiology*, 205(3), 99. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03437-8>
- Favela-Chávez, E., Preciado-Rangel, P., & Benavides-Mendoza, A. (2006). Manual para la preparación de soluciones nutritivas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón.
- Fernández-Martínez, L. T., Javelle, A., & Hoskisson, P. A. (2024). Microbial primer: bacterial growth kinetics. *Microbiology*, 170(2), 001428. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001428>
- Francis, I., Holsters, M., & Vereecke, D. (2010). The Gram-positive side of plant-microbe interactions. *Environmental Microbiology*, 12(1), 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01989.x>
- Galaviz-Villa, I., Gutiérrez-Sampieri, G. D., Pérez-Landa, I. D., Alcántara-Méndez, V., & Salcedo-Garduño, M. G. (2025). Alternativas para el aprovechamiento de residuos agroindustriales y el desarrollo sostenible. *Jóvenes en la Ciencia*, 34, 1-10.

- Gao, T., Wong, Y., Ng, C., & Ho, K. (2012). L-lactic acid production by *Bacillus subtilis* MUR1. *Bioresource Technology*, 121, 105-110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.108>
- García, H. R., Albarracín Calderón, L. C., Toscano LaTorre, A., Santana, N. J., & Insuasty, O. (2007). Guía tecnológica para el manejo integral del sistema productivo de la caña panelera. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA, Bogotá.
- Geisendorf, S., & Pietrulla, F. (2018). The circular economy and circular economic concepts—a literature analysis and redefinition. *Thunderbird International Business Review*, 60(5), 771-782. <https://doi.org/10.1002/tie.21924>
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012(1), 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- González-Leal, M., López-de-Alba, P. L., Miranda, S. V., & Moller, J. A. D. (2025). Simple Spectrophotometric Method for Determination of Capsaicin in Chilis and Spicy Sauces. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 34(1), 178-185. <https://doi.org/10.9734/ijbcrr/2025/v34i1958>
- Gordeeva, Y. L., Rudakovskaya, E. G., Gordeeva, E. L., & Borodkin, A. G. (2017). Mathematical modeling of biotechnological process of lactic acid production by batch fermentation: A review. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 51(3), 282-298. <https://doi.org/10.1134/S0040579517030058>
- Grewal, J., Sadaf, A., Yadav, N., & Khare, S. K. (2020). Agroindustrial waste based biorefineries for sustainable production of lactic acid. In: Bhaskar, T., Pandey, A., Rene, E.R., Tsang, D.C.w. (eds.) *Waste biorefinery*. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818228-4.00005-8>
- Hamed, H. A., Moustafa, Y. A., & Abdel-Aziz, S. M. (2011). In vivo efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. *Life Science Journal*, 8(4), 462-468.

- Harwood, C. R., & Kikuchi, Y. (2022). The ins and outs of *Bacillus* proteases: activities, functions and commercial significance. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(1), fuab046. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab046>
- Hernandez-Martinez, J. M., Gonzalez-del Rosario, I., Bolanos-Reynoso, E., & Mendez-Contreras, J. M. (2024). Anaerobic Fermentation with *Lactobacillus acidophilus* LA-3 for the Production of Lactic Acid and Protein-Rich Biomass from Waste of the Non-centrifugal Cane Sugar Agroindustry. *Sugar Tech*, 26(4), 1124-1133. <https://doi.org/10.1007/s12355-024-01453-6>
- Holgado, F., Campos-Monfort, G., de las Heras, C., & Rupérez, P. (2021). In vitro fermentability of globe artichoke by-product by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 26, 100286. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100286>
- Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley & Sons, Oxford.
- Icer, M. A., Özbay, S., Ağagündüz, D., Kelle, B., Bartkiene, E., Rocha, J. M. F., & Ozogul, F. (2023). The impacts of acidophilic lactic acid bacteria on food and human health: A review of the current knowledge. *Foods*, 12(15), 2965. <https://doi.org/10.3390/foods12152965>
- Jaffar, N. S., Jawan, R., & Chong, K. P. (2023). The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production- A mini review. *Frontiers in plant science*, 13, 1047945. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1047945>
- Jaffé, W. (2012). Non-centrifugal sugar: world production and trade. *Panela monitor*, 4-48.
- Jamnik, P., Mahnič, N., Mrak, A., Pogačnik, L., Jeršek, B., Niccolai, A., Masten Rutar, J., Ogrinc, N., Dušak, L., Ferjančič, B., Korošec, M., Cerar, A., Lazar, B., Lovše, U., Pungert, T., Fabjan, P., & Poklar Ulrih, N. (2022). Fermented Biomass of *Arthrospira platensis* as a Potential Food Ingredient. *Antioxidants*, 11(2), 216. <https://doi.org/10.3390/antiox11020216>

- Jane, S. A., Fernandes, F. A., Muniz, J. A., & Fernandes, T. J. (2020). Nonlinear models to describe height and diameter of sugarcane RB92579 variety. *Revista Ciência Agronômica*, 51, e20196660. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200062>
- Janssen, M., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2022). Microalgae based production of single-cell protein. *Current Opinion in Biotechnology*, 75, 102705. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102705>
- Jiménez, O. R., Bornemann, A. C., Medina, Y. E., Romero, K., & Bravo, J. R. (2023). Prospects of biological inputs as a measure for reducing crop losses caused by climate change effects. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100689. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100689>
- Jones, S. W., Karpol, A., Friedman, S., Maru, B. T., & Tracy, B. P. (2020). Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture. *Current opinion in biotechnology*, 61, 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.12.026>
- Kamal, M. M., Ali, M. R., Shishir, M. R. I., Saifullah, M., Haque, M. R., & Mondal, S. C. (2019). Optimization of process parameters for improved production of biomass protein from *Aspergillus niger* using banana peel as a substrate. *Food science and biotechnology*, 28(6), 1693-1702. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00636-2>
- Kaushik, B. D., Kumar, D., & Shamim, M. (Eds.). (2019). *Biofertilizers and biopesticides in sustainable agriculture*. Apple Academic Press, Florida.
- Khattak, W. A., Khan, T., Ul-Islam, M., Ullah, M. W., Khan, S., Wahid, F., & Park, J. K. (2015). Production, characterization and biological features of bacterial cellulose from scum obtained during preparation of sugarcane jaggery (gur). *Journal of food science and technology*, 52(12), 8343-8349. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1936-7>
- Khoshnevisan, B., Tsapekos, P., Zhang, Y., Valverde-Pérez, B., & Angelidaki, I. (2019). Urban biowaste valorization by coupling anaerobic digestion and single cell protein production. *Bioresource technology*, 290, 121743. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121743>

- Kingston, G. (2013). Mineral nutrition of sugarcane. In: Moore, P.H., Botha, F.C. (eds.) Sugarcane: Physiology, biochemistry, and functional biology. John Wiley & Sons, Iowa. <https://doi.org/10.1002/9781118771280.ch5>
- Kiruba N, J. M., & Saeid, A. (2022). An insight into microbial inoculants for bioconversion of waste biomass into sustainable “bio-organic” fertilizers: a bibliometric analysis and systematic literature review. *International journal of molecular sciences*, 23(21), 13049. <https://doi.org/10.3390/ijms232113049>
- Korhonen, J., Honkasalo, A., & Seppälä, J. (2018). Circular economy: the concept and its limitations. *Ecological economics*, 143, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.06.041>
- Kumar Sarangi, P., Subudhi, S., Bhatia, L., Saha, K., Mudgil, D., Prasad Shadangi, K., Srivastava, R. J., Pattnaik, B., & Arya, R. K. (2023). Utilization of agricultural waste biomass and recycling toward circular bioeconomy. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(4), 8526-8539. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20669-1>
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & engineering chemistry research*, 48(8), 3713-3729. <https://doi.org/10.1021/ie801542g>
- Kumari, R., Singh, R., & Kumar, N. (2019). Effect of crop residue management on soil organic carbon, soil organic matter and crop yield: An overview. *Journal of Applied and Natural Science*, 11(3), 712. <https://doi.org/10.31018/jans.v11i3.2152>
- Lamont, J. R., Wilkins, O., Bywater-Ekegård, M., & Smith, D. L. (2017). From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology and Biochemistry*, 111, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>
- Lark Seeds. (2024). Products. <https://larkseeds.com/products>. Consultado 09 septiembre 2024.
- Leite, M. R. L., Costa, R. M., Matos, S. D. S., Andrade, H. A. F. D., & Silva-Matos, R. R. S. D. (2023). Production of pre-sprouted sugarcane seedlings using carnauba bagana as substrate. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 53, e74082. <https://doi.org/10.1590/1983-40632023v5374082>

- Li, Y.R. (2022) Growth and development of sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrid) and its relationship with environmental factors. In: Verma, K.K., Song, X.P., Rajput, V.D., Solomon, S., Li, Y.R., Rao, G.P. (eds.) *Agro-industrial Perspectives on Sugarcane Production under Environmental Stress*. Springer, Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-19-3955-6_1
- Lian, J., Liu, W., Meng, L., Wu, J., Chao, L., Zeb, A., & Sun, Y. (2021). Foliar-applied polystyrene nanoplastics (PSNPs) reduce the growth and nutritional quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Environmental pollution*, 280, 116978.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116978>
- Limanska, N., Ivanytsia, T., Basiul, O., Krylova, K., Biscola, V., Chobert, J. M., Ivanytsia, V., & Haertlé, T. (2013). Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. *Acta physiologiae plantarum*, 35, 1587-1595.
<https://doi.org/10.1007/s11738-012-1200-y>
- López Lopera, J. G. (2015). Manejo agronómico del cultivo de la caña de azúcar para panela en Antioquia. Corporación colombiana de investigación agropecuaria-AGROSAVIA.
- López-Legarda, X., Taramuel-Gallardo, A., Arboleda-Echavarría, C., Segura-Sánchez, F., & Restrepo-Betancur, L. F. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, 29(2), 180-198.
- López-Puc, G., Rodríguez-Rodríguez, J.D., Ramírez-Sucre, M. O., Rodríguez-Buenfil, I.M. (2020). Manejo agronómico y los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas del cultivo de chile habanero. In: Rodríguez-Buenfil, I.M., Ramírez-Sucre, M.O., Ramírez-Rivera, E.J. (eds.) *Metabolómica y cultivo del chile habanero (Capsicum chinense Jacq) de la península de Yucatán*. CIATEJ, México.
- Luna-Fletes, J. A., Cruz-Crespo, E., Can-Chulim, Á., Chan-Cupul, W., Luna-Esquivel, G., García-Paredes, J. D., & Mancilla-Villa, O. R. (2021). Producción de plántulas de chile habanero con fertilización orgánica y biológica. *Terra Latinoamericana*, 39.
<https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.988>
- MacArthur, E. (2013). Towards the circular economy, economic and business rationale for an accelerated transition. Ellen MacArthur Foundation: Cowes, UK.

- Macedo, J. V. C., de Barros Ranke, F. F., Escaramboni, B., Campioni, T. S., Núñez, E. G. F., & de Oliva Neto, P. (2020). Cost-effective lactic acid production by fermentation of agro-industrial residues. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101706. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101706>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckle, D. H., & Sathl, D. A. (2015). *Brock Biología de los microorganismos*. 14^o Edición. Pearson Educación, Madrid.
- Madrigal Pérez, G. B. (2019). Influencia de la dilución sobre la digestión anaerobia de la Cachaza, residuo producido en la agroindustria panelera de Colombia. Tesis de Licenciatura, Universidad Peruana Unión.
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein determination—method matters. *Foods*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Mahapatra, S., Yadav, R., & Ramakrishna, W. (2022). *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Journal of applied microbiology*, 132(5), 3543-3562. <https://doi.org/10.1111/jam.15480>
- Malvido, M. C., González, E. A., Bazán Tantaleán, D. L., Bendaña Jácome, R. J., & Guerra, N. P. (2019). Batch and fed-batch production of probiotic biomass and nisin in nutrient-supplemented whey media. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(4), 915-925. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00114-1>
- Mamani de Marchese, A., & Filippone, M. P. (2018). Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 38(1), 9-21.
- McFarland, M.L., Haby, V.A., Redmon, L.A., Bade, D.H. (2024). Managing soil acidity. Texas A&M AgriLife Extension Department. <https://hdl.handle.net/1969.1/202200>
- Mejía-Bautista, M. A., Cristóbal-Alejo, J., Ramiro Pacheco-Aguilar, J., & Reyes-Ramírez, A. (2022). *Bacillus* spp. en el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* Jacq. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(1).
- Mendieta, O., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020b). Synergistic effect of sugarcane scum as an accelerant co-substrate on anaerobic co-digestion with

- agricultural crop residues from non-centrifugal cane sugar agribusiness sector. *Bioresource Technology*, 303, 122957. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122957>
- Mendieta, O., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020c). Management and valorization of waste from a non-centrifugal cane sugar mill via anaerobic co-digestion: Technical and economic potential. *Bioresource Technology*, 316, 123962. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123962>
- Mendieta, O., Madrigal, G., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020a). Sugarcane scum as a novel substrate for rapid biogas production from the non-centrifugal cane sugar agribusiness sector in developing countries. *Bioresource Technology*, 297, 122364. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122364>
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13(3), 638-649. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000051>
- Molfetta, M., Morais, E. G., Barreira, L., Bruno, G. L., Porcelli, F., Dugat-Bony, E., Bonnarne, P., & Minervini, F. (2022). Protein sources alternative to meat: state of the art and involvement of fermentation. *Foods*, 11(14), 2065. <https://doi.org/10.3390/foods11142065>
- Molina-Morejón, V. M., Espinoza-Arellano, J. D. J., Contreras-Martínez, J. G., & Díaz-Gurrola, E. R. (2025). Gestión de residuos agroindustriales: un enfoque de bioeconomía circular. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 16(6). <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i6.3792>
- Mora-Adames, W. I., Fuenmayor, C. A., Benavides-Martín, M. A., Algecira-Enciso, N. A., & Quicazán, M. C. (2021). Bee pollen as a novel substrate in pilot-scale probiotic-mediated lactic fermentation processes. *Lwt*, 141, 110868. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110868>
- Morales, P. M., Monterrubio, C. G., & Ibarra, M. M. (2021). Uso de biofertilizantes para una producción más rentable y sustentable de caña de azúcar en México. C3-

- BIOECONOMY: Circular and Sustainable Bioeconomy, (2), 81-100.
<https://doi.org/10.21071/c3b.vi2.13533>
- Moreno-Salazar, R., Sánchez-García, I., Chan-Cupul, W., Ruiz-Sánchez, E., Hernández-Ortega, H. A., Pineda-Lucatero, J., & Figueroa-Chávez, D. (2020). Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, 261, 108950. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108950>
- Murillo-Cuevas, F. D., Cabrera-Mireles, H., Adame-García, J., Vásquez-Hernández, A., Martínez-García, A. D. J., & Moctezuma, R. L. (2021). Bioestimulantes en la calidad de frutos de chile habanero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(8), 1473-1481. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i8.2900>
- Naamala, J., Msimbira, L. A., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2023). *Lactobacillus helveticus* EL2006H cell-free supernatant enhances growth variables in *Zea mays* (maize), *Glycine max* L. Merrill (soybean) and *Solanum tuberosum* (potato) exposed to NaCl stress. *Frontiers in microbiology*, 13, 1075633. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1075633>
- Nava-Pacheco, D., Juárez-García, I. A., Landeta-Escamilla, O., Del Moral, S., Rosas-Mendoza, E. S., & Orizaba, V. (2019). Potencial bioenergético a partir de residuos agroindustriales del estado de Veracruz. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability*, 1(1), 53-64.
- Naz, M., Dai, Z., Hussain, S., Tariq, M., Danish, S., Khan, I. U., Qi, S., & Du, D. (2022). The soil pH and heavy metals revealed their impact on soil microbial community. *Journal of Environmental Management*, 321, 115770. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115770>
- NMX-F-716-COFOCALEC-2014. (2014). Sistema producto leche – Alimentos lácteos determinación de acidez en leche fluida – Métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación.
- NOM-001-RECNAT-2000. (2000). Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación.

- NOM-127-SSA1-2021. (2021). Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Diario Oficial de la Federación.
- Nwamba, M. C., Sun, F., Mukasekuru, M. R., Song, G., Harindintwali, J. D., Boyi, S. A., & Sun, H. (2021). Trends and hassles in the microbial production of lactic acid from lignocellulosic biomass. *Environmental Technology & Innovation*, 21, 101337. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101337>
- Obileke, K., Nwokolo, N., Makaka, G., Mukumba, P., & Onyeaka, H. (2021). Anaerobic digestion: Technology for biogas production as a source of renewable energy—A review. *Energy & Environment*, 32(2), 191-225. <https://doi.org/10.1177/0958305X20923117>
- Ochoa, M., Reyes, M., & Manríquez, J. (2010). Producción Sostenible de Caña de Azúcar en México. *FIRA Boletín Informativo Nueva Época*, (11).
- Ojo, A. O., & de Smidt, O. (2023). Lactic acid: a comprehensive review of production to purification. *Processes*, 11(3), 688. <https://doi.org/10.3390/pr11030688>
- Oñal Jr, P. A., Baldonebro, J. J. G., Cortez, M. D., Andrade, F. E., Bermejo, N. J. C., Lovino, M. M., & Poblacion, A. M. V. (2024). Enhancing Rooting and Biomass of Sugarcane Setts with Bio-Stimulant at Germination Stage. *International Journal of Multidisciplinary: Applied Business and Education Research*, 5(6), 2173-2188. <https://doi.org/10.11594/ijmaber.05.06.20>
- Panetto, L. D., Doria, J., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., de Andrade, L. A., & Rigobelo, E. C. (2023). Lactic Bacteria with Plant-Growth-Promoting Properties in Potato. *Microbiology Research*, 14(1), 279-288. <https://doi.org/10.3390/microbiolres14010022>
- Park, S. A., Bhatia, S. K., Park, H. A., Kim, S. Y., Sudheer, P. D., Yang, Y. H., & Choi, K. Y. (2021). *Bacillus subtilis* as a robust host for biochemical production utilizing biomass. *Critical reviews in biotechnology*, 41(6), 827-848. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1888069>
- Pau, S., Tan, L. C., Arriaga, S., & Lens, P. N. (2024). Lactic acid fermentation of food waste at acidic conditions in a semicontinuous system: effect of HRT and OLR changes.

- Biomass Conversion and Biorefinery, 14(10), 10979-10994.
<https://doi.org/10.1007/s13399-022-03201-w>
- Peinemann, J. C., & Pleissner, D. (2020). Continuous pretreatment, hydrolysis, and fermentation of organic residues for the production of biochemicals. *Bioresource Technology*, 295, 122256. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122256>
- Pellegrini, M., Pagnani, G., Bernardi, M., Mattedi, A., Spera, D. M., & Gallo, M. D. (2020). Cell-free supernatants of plant growth-promoting bacteria: a review of their use as biostimulant and microbial biocontrol agents in sustainable agriculture. *Sustainability*, 12(23), 9917. <https://doi.org/10.3390/su12239917>
- Peng, W., Meng, D., Yue, T., Wang, Z., & Gao, Z. (2021). Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus fermentum*. *Food Chemistry*, 340, 127922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127922>
- Pinter, I. F., Salomón, M. V., Martín, J. N., Uliarte, E. M., & Hidalgo, A. (2022). Effect of bioslurries on tomato *Solanum lycopersicum* L and lettuce *Lactuca sativa* development. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 54(2), 48-60. <https://doi.org/10.48162/rev.39.082>
- Polak-Berecka, M., Waśko, A., Kordowska-Wiater, M., Targoński, Z., & Kubik-Komar, A. (2011). Application of response surface methodology to enhancement of biomass production by *Lactobacillus rhamnosus* E/N. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1485-1494. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400035>
- Prasad, B., Sharma, D., Kumar, P., & Dubey, R. C. (2023). Biocontrol potential of *Bacillus* spp. for resilient and sustainable agricultural systems. *Physiological and molecular plant pathology*, 128, 102173. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102173>
- Pylak, M., Oszust, K., & Frąc, M. (2019). Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18(3), 597-616. <https://doi.org/10.1007/s11157-019-09500-5>

- Raman, J., Kim, J. S., Choi, K. R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y. J., & Kim, S. J. (2022). Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7784. <https://doi.org/10.3390/ijms23147784>
- Rather, A. M. U. D., Hajam, M. A., Bhat, M. S. A., & Malik, M. I. (2023). Horticulture: principles and practices. Academic Guru Publishing House, Bhopal.
- Rawoof, S. A. A., Kumar, P. S., Vo, D. V. N., Devaraj, K., Mani, Y., Devaraj, T., & Subramanian, S. (2021). Production of optically pure lactic acid by microbial fermentation: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 539-556. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01083-w>
- Rocafuerte Peña, J.I. (2022). Desarrollo del proceso de bioconversión de los residuos provenientes de café (*coffea arabica*) mediante la acción anaerobia fermentativa de lactobacilo (*Bacillus subtilis*). Tesis de maestría. Tecnológico Nacional de México Campus Orizaba.
- Rodríguez Romero, A. J., Robles Salazar, C. A., Ruíz Picos, R. A., López López, E., Sedeño Díaz, J. E., & Rodríguez Dorantes, A. (2014). Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(3), 307-316.
- Rogeri, R. C., Fuess, L. T., Eng, F., do Vale Borges, A., de Araujo, M. N., Damianovic, M. H. R. Z., & da Silva, A. J. (2023). Strategies to control pH in the dark fermentation of sugarcane vinasse: Impacts on sulfate reduction, biohydrogen production and metabolite distribution. *Journal of Environmental Management*, 325, 116495. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116495>
- Romero, E., Scandaliaris, J., Digonzelli, P., Neme, F. L., Giardina, J., de Ullivarri, J. F., Casen, S.D., Tonatto, M.J., & Alonso, L. (2009). La caña de azúcar. Características y ecofisiología. In: Romero, E., Digonzelli, P., Scandaliaris, J. (eds.) *Manual del Cañero*. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán.
- Romero-Mota, D. I., Estrada-García, J., Alvarado-Lassman, A., & Méndez-Contreras, J. M. (2023). Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* during the anaerobic

- biotransformation process of agro-sugarcane waste. *Waste and Biomass Valorization*, 14(11), 3857-3867. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02100-z>
- Romero-Mota, D. I., Estrada-García, J., Sales-Pérez, R. E., & Méndez-Contreras, J. M. (2024). Valorization of bovine manure and molasses by the production of lactic acid and biomass through probiotic anaerobic cofermentation with *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, and *Bacillus subtilis*. *Journal of Environmental Engineering*, 150(2), 04023100. <https://doi.org/10.1061/JOEEDU.EEENG-7542>
- Rosales-Castillo, R., Lucio, V. D., Susana, B., Hernández-Domínguez, E. M., & Álvarez-Cervantes, J. (2025). Bio-inputs: An Alternative to Achieve Sustainable Agriculture. *Terra Latinoamericana*, 43. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2045>
- Ruiz-Sánchez, E., Chan-Escalante, Z. F., Ballina-Gómez, H. S., Fernández-Herrera, M. A., & Góngora-Gamboa, C. D. J. (2022). Effect of biostimulants on the growth, foliar characteristics and population density of *Bemisia tabaci* in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(42), 1-7. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3757>
- Sacco System (2024) Probióticos CultureSelect. <https://www.saccosystem.com/cat-2/es/microbiome/29/probioticos-cultureselect/143/>. Consultado 20 de agosto de 2024.
- Safdar, H., Amin, A., Shafiq, Y., Ali, A., Yasin, R., Shoukat, A., Hussan, M.U., & Sarwar, M. I. (2019). A review: Impact of salinity on plant growth. *Nat. Sci*, 17(1), 34-40.
- Salazar-López, N. J., Enríquez-Valencia, S. A., Zuñiga Martínez, B. S., & González-Aguilar, G. A. (2023). Residuos agroindustriales como fuente de nutrientes y compuestos fenólicos. *Epistemos* (Sonora), 17(34), 60-69. <https://doi.org/10.36790/epistemos.v17i34.265>
- Salgado-García, S., Álvarez-Sánchez, G. F., Palma-López, D. J., Lagunes-Espinoza, L. D. C., & Ortiz-Laurel, H. (2019). Germinación de la semilla artificial de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) bajo condiciones de Huimanguillo-Tabasco, México. *Agro Productividad*, 12(7). <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1442>
- Sanchez, N., Cobo, M., Rodríguez-Fontalvo, D., Ruiz-Pardo, R. Y., & Roedl, A. (2024). Unlocking sustainable solutions: Harnessing residual biomass from Colombia's non-

- centrifugal sugar chain for green market deployment. *Bioresource Technology Reports*, 26, 101858. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2024.101858>
- Sanchez, N., Ruiz, R. Y., Cifuentes, B., & Cobo, M. (2019). Controlling sugarcane press-mud fermentation to increase bioethanol steam reforming for hydrogen production. *Waste Management*, 98, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.08.006>
- Sanchez, N., Ruiz, R. Y., Infante, N., & Cobo, M. (2017). Bioethanol production from Cachaza as hydrogen feedstock: Effect of ammonium sulfate during fermentation. *Energies*, 10(12), 2112. <https://doi.org/10.3390/en10122112>
- Sánchez-Ramón, C. I., Hernández-Chontal, M. A., Rodríguez-Orozco, N., Parada-Molina, P. C., & Bautista-Aguilar, J. R. (2024). Efectividad de la aplicación de fertilizantes sintéticos y Biol en el crecimiento y producción de biomasa de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 12(1), 16-23. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v12i1.536>
- Sánchez-Valeriano, N., Romero-Mota, D. I., Estrada-García, J., Méndez-Contreras, J. M., & Hernández-Aguilar, E. (2022). Revalorización de residuos de maíz blanco (*Zea Mays* L.) para la obtención de biomasa con *Lactobacillus acidophilus*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México*, 10(1), 14-22.
- Santos, F., Eichler, P., Machado, G., De Mattia, J., & De Souza, G. (2020). By-products of the sugarcane industry. In: Santos, F., Rabelo, S.C., de Matos, M., Eichler, P. (eds.) *Sugarcane biorefinery, technology and perspectives*. Elsevier, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814236-3.00002-0>
- Sarango, A. F. H., Lescano, J. C. P., Sánchez, P. V. M., Barragán, C. E. C., & Velasco, J. E. L. (2024). *Economía Circular: Modelos de Negocio y Estrategias Sostenibles*. Know Press, Quevedo.
- Servín-Juárez, R., Cruz-Carrasco, C., Hidalgo-Contreras, J. V., Ramírez-Calderón, G., & Ramos-Soto, A. L. (2018). Factores críticos en la administración de trapiches de la región de Huatusco, Veracruz. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 42, 919-928.
- Sharif, M., Zafar, M. H., Aqib, A. I., Saeed, M., Farag, M. R., & Alagawany, M. (2021). Single cell protein: Sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in

- aquaculture nutrition. Aquaculture, 531, 735885.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735885>
- Shrestha, A., Kim, B. S., & Park, D. H. (2014). Biological control of bacterial spot disease and plant growth-promoting effects of lactic acid bacteria on pepper. *Biocontrol Science and Technology*, 24(7), 763-779.
<https://doi.org/10.1080/09583157.2014.894495>
- Sieiro-Miranda, G. L. (2015). Influencia de variables meteorológicas sobre el rendimiento de la caña de azúcar. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 5(7), 1399-1410.
<https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v4i1.41>
- Singh, B. P., Sinha, T., Sarkar, S., & Kumari, A. (2025). Prospects in Sugarcane Cultivation: An Overview. In: Verma, K.K., Song, X-P., Sigh, M., Prado, R. d M., Wu, J-M., Li, Y-R. (eds.) *Sugarcane Cultivation and Management*. Apple Academic Press, New York.
- Singhvi, M., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2018). Free lactic acid production under acidic conditions by lactic acid bacteria strains: challenges and future prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(14), 5911-5924. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9092-4>
- Sisti, L., Celli, A., Totaro, G., Cinelli, P., Signori, F., Lazzeri, A., Bikaki, M., Corvini, P., Ferri, M., Tassoni, A., & Navarini, L. (2021). Monomers, materials and energy from coffee by-products: A review. *Sustainability*, 13(12), 6921.
<https://doi.org/10.3390/su13126921>
- Soares, R. S., da Costa Ribeiro, C. S., Ragassi, C. F., de Carvalho, S. I. C., Maldonade, I. R., da Silva Filho, J. G., Braz, L.T., & Reifschneider, F. J. B. (2020). New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical characterization in different environments. *Scientia Horticulturae*, 261, 108941.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108941>
- Solval, K. M., Chouljenko, A., Chotiko, A., & Sathivel, S. (2019). Growth kinetics and lactic acid production of *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496, *L. acidophilus* NRRL B-

- 4495, and *L. reuteri* B-14171 in media containing egg white hydrolysates. *Lwt*, 105, 393-399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.058>
- Suman, G., Nupur, M., Anuradha, S., & Pradeep, B. (2015). Single cell protein production: a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(9), 251-262.
- Syngenta Biological. (2024). Bioestimulantes. <https://www.syngentabiologicals.com/mexico/es/productos/farm/bioestimulantes/>. Consultado 09 septiembre de 2024.
- Tan, E. C., & Lamers, P. (2021). Circular bioeconomy concepts—a perspective. *Frontiers in sustainability*, 2, 701509. <https://doi.org/10.3389/frsus.2021.701509>
- Tang, J., Wang, X. C., Hu, Y., Zhang, Y., & Li, Y. (2017). Effect of pH on lactic acid production from acidogenic fermentation of food waste with different types of inocula. *Bioresource technology*, 224, 544-552. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.111>
- Taweengern, K., Aramrak, S., Areeprasert, C. (2024). Effect of Biochar and Hydrochar Germination Rate of Khon Kaen 3 Sugarcane Bud Seed Under Terrible Soil Conditions. In: *International Conference on Sustainable Energy and Environmental Technology for Circular Economy*, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-96-2306-8_2
- Tjørve, K. M., & Tjørve, E. (2017). The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family. *PloS one*, 12(6), e0178691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178691>
- Torre Pascual, I. (2019). Producción biotecnológica de ácido D-Láctico a partir de residuos de naranja. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., Baladi, S., Bosma, E. F., & Angelidaki, I. (2020). Fermentative production of lactic acid as a sustainable approach to valorize household bio-waste. *Frontiers in Sustainability*, 1, 4. <https://doi.org/10.3389/frsus.2020.00004>
- U.S. EPA. (1996) *Ecological Effects Test Guidelines (OPPTS850.4200): Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test*. EPA, Washington D.C.

- Uarrota, V. G., Maraschin, M., de Baires, A. D. F. M., & Pedreschi, R. (2021). Factors affecting the capsaicinoid profile of hot peppers and biological activity of their non-pungent analogs (Capsinoids) present in sweet peppers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(4), 649-665. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1743642>
- Ugalde Hernández, O. (2021). Evolución histórica-epistemológica de la economía circular: ¿Hacia un nuevo paradigma del desarrollo? *Economía y Sociedad*, 26(59), 83-95.
- UNPCA. (2024). Boletín técnico No. 24 Tratamiento hidrotérmico semilla de caña de azúcar. <https://unpca.org.mx/boletines/>. Consultado 30 de agosto de 2024.
- Valdovinos-Nava, W., Chan-Cupul, W., Hernández-Ortega, H. A., & Ruíz-Sánchez, E. (2020). Effects of biological and mineral fertilization on the growth, nutrition, and yield of *Capsicum chinense* under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 43(15), 2286-2298. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1771586>
- Vanajothi, R., Bhavaniramy, S., & Vishnupriya, S. (2022). Exploring the biostimulants in plant science. In: Singh, H.B., Vaishnav, A. (eds.) *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85579-2.00008-3>
- Vargas Loeza, L.J. (2017). Efecto de dosis de fertilización en la producción de genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) Tesis de Doctorado. Tecnológico Nacional de México Campus Conkal.
- Velasco-Velasco, J. (2018). Los biofertilizantes y la caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Agro Productividad*, 7(2), 60-64. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.352306>
- Venkatesh, T., AM, N. L., Silpa, V., Dharmalingam, B., Reshma, M. V., Sajeev, M. S., Pandiselvan, R., & Kothakota, A. (2023). Current production strategies and sustainable approaches towards the resurgence of non-centrifugal cane sugar production—a review. *Sustainable Food Technology*, 1(2), 200-214. <https://doi.org/10.1039/D2FB00032F>
- Villa-Castorena, M., Catalán-Valencia, E.A., Inzunza-Ibarra, M.A., Román-López, A., Macías-Rodríguez, H., Cabrera-Rodarte, D. (2014). Producción hidropónica de chile habanero en invernadero. INIFAQ, Gómez Palacios.

- Villavicencio-Vásquez, M., Espinoza-Lozano, F., Espinoza-Lozano, L., & Coronel-León, J. (2025). Biological control agents: mechanisms of action, selection, formulation and challenges in agriculture. *Frontiers in Agronomy*, 7, 1578915. <https://doi.org/10.3389/fagro.2025.1578915>
- Viscardi, S., Marileo, L., Barra, P. J., Durán, P., & Inostroza-Blancheteau, C. (2020). From farm to fork: it could be the case of Lactic Acid Bacteria in the stimulation of folates biofortification in food crops. *Current Opinion in Food Science*, 34, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.08.002>
- Wang, Y., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2015). Fermentative production of lactic acid from renewable materials: Recent achievements, prospects, and limits. *Journal of bioscience and bioengineering*, 119(1), 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.06.003>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wei, X., Xie, B., Wan, C., Song, R., Zhong, W., Xin, S., & Song, K. (2024). Enhancing soil health and plant growth through microbial fertilizers: Mechanisms, benefits, and sustainable agricultural practices. *Agronomy*, 14(3), 609. <https://doi.org/10.3390/agronomy14030609>
- Wu, Y., Ma, H., Zheng, M., & Wang, K. (2015). Lactic acid production from acidogenic fermentation of fruit and vegetable wastes. *Bioresource technology*, 191, 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.100>
- Xu, L., & Geelen, D. (2018). Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. *Frontiers in plant science*, 9, 1567. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01567>
- Yaashikaa, P. R., Kumar, P. S., & Varjani, S. (2022). Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. *Bioresource Technology*, 343, 126126. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126126>
- Yeboah, P. J., Ibrahim, S. A., & Krastonov, A. (2023). A review of fermentation and the nutritional requirements for effective growth media for lactic acid bacteria. *Food*

Science and Applied Biotechnology, 6(2), 215-240.
<https://doi.org/10.30721/fsab2023.v6.i2.269>

Yousuf, A., Bastidas-Oyanedel, J. R., & Schmidt, J. E. (2018). Effect of total solid content and pretreatment on the production of lactic acid from mixed culture dark fermentation of food waste. Waste Management, 77, 516-521.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.04.035>

Zhang, B., Zhang, S. X., Yao, R., Wu, Y. H., & Qiu, J. S. (2021). Progress and prospects of hydrogen production: Opportunities and challenges. Journal of electronic science and technology, 19(2), 100080. <https://doi.org/10.1016/j.jnlest.2021.100080>

Zhang, W. (2018). Global pesticide use: Profile, trend, cost/benefit and more. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 8(1), 1.

Productos Académicos

1. Gonzalez-del Rosario I, **Hernández-Martínez JM**, Bolaños-Reynoso E, Alvarado-Lassman A, Méndez-Contreras JM. (2023). Aprovechamiento de los residuos generados en la agroindustria piloncillera mediante fermentación láctica. *Memorias del XLIV Encuentro Nacional de la AMIDIQ* 2(1): AMB-39.
2. Gonzalez-del Rosario I, **Hernández-Martínez JM**, Bolaños-Reynoso E, Méndez-Contreras JM. (2023). Producción de ácido láctico, vía fermentación microbiana, a partir de los residuos de la agroindustria piloncillera. *Journal CIM* 11(1): 524-530.
3. Gonzalez-del Rosario I, **Hernández-Martínez JM**, Bolaños-Reynoso E, Rosas-Mendoza ES, Méndez-Contreras JM. (2023). Kinetic parameters of *Lactobacillus acidophilus* growth in the lactic fermentation of non-centrifugal cane sugar agroindustry wastes. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability* 6(1): 43-49. <https://doi.org/10.56845/rebs.v6i1.92>
4. **Hernández-Martínez JM**, Gonzalez-del Rosario I, Bolaños-Reynoso E, Méndez-Contreras JM. (2024). Anaerobic Fermentation with *Lactobacillus acidophilus* LA-3 for the Production of Lactic Acid and Protein-Rich Biomass from Waste of the Non-centrifugal Cane Sugar Agroindustry. *Sugar Tech* 26(4): 1124-1133. <https://doi.org/10.1007/s12355-024-01453-6>
5. Rodríguez-Rivera V, Estrada-García J, Sales-Pérez RE, **Hernández-Martínez JM**, Méndez-Contreras JM. (2025). Valorization of Agro-industrial Waste to Produce a Probiotic-bio-stimulant Through the Anaerobic Co-fermentation Process with *Lactobacillus Casei*: a Circular Economy Approach in Vulnerable Communities of Mexico. *Water, Air, & Soil Pollution* 236: 925. <https://doi.org/10.1007/s11270-025-08587-7>

6. Sales-Pérez RE, Estrada-García J, **Hernández-Martínez JM**, Pérez-Guzmán SM, Méndez-Contreras JM. (2025). Kinetics of Biological Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewater in Photobioreactors Operated with *Nannochloropsis oculata*: A Strategy for the Valorization of Agro-Industrial Effluents. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-025-03415-9>
7. **Hernández-Martínez JM**, Carmona-Rosas U, Bolaños-Reynoso E, Rosas-Mendoza ES, Méndez-Contreras JM. (2025). Treatment, valorization and utilization of waste of the non-centrifugal cane sugar agroindustry through the production of biostimulants via anaerobic fermentation with *Lactobacillus acidophilus* LA-3 and *Bacillus subtilis* QS-713: case study of *Saccharum officinarum* seedlings growth. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. **Enviado y en proceso de revisión por pares.**

Anexos

No aplica