



Educación

Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®
Instituto Tecnológico de Orizaba

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“PRODUCCIÓN DE BIOESTIMULANTES DE CRECIMIENTO DE
ESPECIES DE USO FORESTAL Y COMERCIAL A PARTIR DEL
PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE GRANOS GASTADOS DE
CERVEZA ARTESANAL CON *Lactobacillus rhamnosus*”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

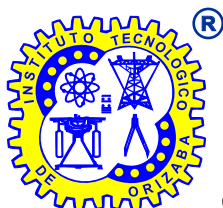
I.Q. Phoebe Sabrina Rodríguez Ortega

DIRECTOR DE TESIS:

M.C. María Elena García Reyes

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO.

MARZO 2026



Educación
Secretaría de Educación Pública



INSTITUTO TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, **10/marzo/2026**
Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación.
Asunto: Autorización de Impresión
Opción: I

PHOEBE SABRINA RODRÍGUEZ ORTEGA
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRA EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos 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 DE BIOESTIMULANTES DE CRECIMIENTO DE ESPECIES DE USO FORESTAL Y COMERCIAL A PARTIR DEL
PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE GRANOS GASTADOS DE CERVEZA ARTESANAL CON
LACTOBACILLUS RHAMNOSUS**

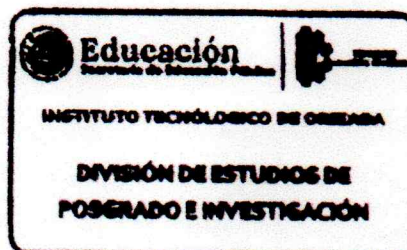
Comunico a usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica

DR. OSCAR BÁEZ SENTIES
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ccp. Archivo
OBS/NAVC



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
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 26/enero/2026
Asunto: revisión de trabajo escrito

DR. OSCAR BAEZ SENTIES
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

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

PHOEBE SABRINA RODRÍGUEZ ORTEGA

La cual lleva el título de:

PRODUCCIÓN DE BIOESTIMULANTES DE CRECIMIENTO DE ESPECIES DE USO FORESTAL Y COMERCIAL A PARTIR DEL
PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE GRANOS GASTADOS DE CERVEZA ARTESANAL CON
LACTOBACILLUS RHAMNOSUS

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica

PRESIDENTE: M.C. MARÍA ELENA GARCÍA REYES
SECRETARIO: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS
VOCAL: DR. ERIK SAMUEL ROSAS MENDOZA
VOCAL SUP.: DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA


FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

TA-09-18



DEDICATORIAS

Agradezco a la vida, por permitirme despertar cada día y por la salud para disfrutar la vida acompañada de mi familia y seres queridos. Agradezco los éxitos, pero sobre todo los fracasos ya que gracias a ellos he podido frustrarme, desmoronarme, pero lo más importante ponerme a prueba y convertirme en una mejor versión de mi misma.

A mis padres, Oscar y Gregoria, por su incondicional amor y consejos que tanto a mi hermano y a mi nos han permitido ser personas de bien y sobre todo personas queridas. Me enorgullezco de ser la persona que soy con todos mis defectos y virtudes todo gracias a ustedes. Papá, gracias por ser el vivo ejemplo de superación y demostrarme que, con trabajo duro, disciplina y constancia sin importar lo difícil que puede llegar a ser el camino ni el tiempo que tarde todo se puede lograr. Mamá, gracias a ti aprendí a ser una mujer fuerte y segura igual que tú, y por creer en mí incluso cuando yo no lo hacía.

Agradezco a mi hermano Iván, por su cariño el cual aumenta con los años. Gracias por ser el ejemplo de persona que aspiro a ser y por tu apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

Agradezco a mis amigos Yetziráh, Lucy, Salma, María, Zazu, Mateo, Raúl, Nohemi, Abraham, Kenya y Alfredo, por su compañía, por celebrar mis logros como propios y por alentarme siempre a cumplir mis metas.

A Gabriel, por tu paciencia y apoyo incondicional cuando más lo necesité. Gracias por acompañar mi camino, por aplaudir mis éxitos y por tu cariño.

Finalmente, me agradezco a mí misma. Solo yo sé el sacrificio, esfuerzo y dedicación detrás de este logro.

RECONOCIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento al Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, cuyo apoyo y exigencia rigurosa fueron determinantes para que este trabajo sobrepasara los límites esperados. Su confianza en mi potencial y las herramientas que me brindó marcaron una diferencia invaluable en mi formación.

A la M.C. María Elena García Reyes por apoyo, tiempo y disposición constante para atenderme fueron fundamentales en este proceso. Gracias a su guía y compromiso, pude avanzar con mayor seguridad y confianza.

Al Dr. Erik Rosas Mendoza, por su tiempo y dedicación, pero sobre todo por sus consejos que, en momentos de incertidumbre, fueron una guía y motivación. Sus palabras fueron un recordatorio del tipo de profesional que aspiro a ser.

A la Dra. Ofelia Landeta Escamilla, por su disposición siempre abierta para atender mis dudas y ofrecer soporte cuando más lo necesite. Su paciencia y atención fue un valioso respaldo en este proceso.

A la Dra. Viviana Rodríguez Rivera, por su apoyo y por compartir conocimientos que me resultaron fundamentales para la construcción de esta tesis. Su disposición de siempre ofrecerme una mano cuando lo necesite fu un gesto que siempre recordaré.

Al Laboratorio Ambiental II por facilitarme el espacio y los recursos necesarios para llevar a cabo este trabajo y por el apoyo de parte de mis compañeros ante cualquier duda que se me presentaba.

Al Dr. Alejandro Alvarado Lassman y la M.I.Q. Norma Vallejo Cantú, por el interés mostrado y la dedicación brindada a lo largo de la maestría. Sus aportaciones contribuyeron de manera significativa a mi desarrollo académico y personal.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), antes CONAHCYT por otorgarme la beca 1340561 para la realización de este trabajo

RESUMEN

Producción de bioestimulantes de crecimiento de especies de uso forestal y comercial a partir del proceso de biotransformación de granos gastados de cerveza artesanal con *Lactobacillus rhamnosus*.

Elaborado por: I.Q. Phoebe Sabrina Rodríguez Ortega

Dirigida por: M.C. María Elena García Reyes

La industria cervecera genera grandes volúmenes de granos gastados de cerveza (alrededor del 85 %). El objetivo de esta investigación fue obtener un bioestimulante de crecimiento vegetal a partir del proceso de biotransformación anaerobia de granos gastado de cerveza artesanal (GGCA) con *Lactobacillus rhamnosus*, aplicado en especies forestal (encino) y comercial (cebada).

Se implementó el proceso de biotransformación anaerobia empleando tres concentraciones de inóculo (5, 10 y 15 % v/v). El proceso fermentativo se realizó en un reactor batch de 1 L, a 37 °C por un periodo de 72 horas y agitación constante de 120 rpm.

El proceso de biotransformación con *L. rhamnosus* mostró diferencias significativas entre los tres inóculos. El tratamiento del 5 % demostró una menor degradación de carbohidratos. Por el contrario, el inóculo del 10 % destacó por su mayor velocidad de crecimiento y densidad celular final, aunque su tiempo de adaptación es mayor. Finalmente, el inóculo del 15 % disminuyó dicho tiempo y sus valores de proteínas y nitrógeno fueron mayores. En las pruebas de aplicación, el fermento del 15 % destacó en cebada al igualar la altura del testigo y superar la biomasa total. En encino mejoró el índice de esbeltez, la concentración de clorofila y el desarrollo radicular.

Los resultados obtenidos demuestran que los fermentos probióticos obtenidos mediante biotransformación de los GGCA con *L. rhamnosus* son bioestimulantes eficaces que promueven el crecimiento vegetal, mejoran las propiedades del suelo y representan una alternativa sostenible de economía circular para la valorización de residuos cerveceros, contribuyendo al sector cervecero artesanal.

ABSTRACT

Production of growth biostimulants for forest and commercial species through the biotransformation of craft brewery spent grains using *Lactobacillus rhamnosus*.

By: I.Q. Phoebe Sabrina Rodríguez Ortega

Advisor (s): M.C. María Elena García Reyes

The brewing industry generates large volumes of spent beer grains (around 85%). The aim of this research was to obtain a plant growth biostimulant from the anaerobic biotransformation of craft brewery spent grains (CBSG) with *Lactobacillus rhamnosus*, applied to forest (oak) and commercial (barley) species.

The anaerobic biotransformation process was implemented using three inoculum concentrations (5, 10, and 15 % v/v). The fermentation process was carried out in a 1 L batch reactor at 37 °C for 72 hours with constant stirring at 120 rpm.

The biotransformation process with *L. rhamnosus* showed significant differences among the three inoculums. The 5 % treatment demonstrated less carbohydrate degradation. Conversely, the 10 % inoculum stood out for its faster growth rate and higher final cell density, although its adaptation time was longer. Finally, the 15 % inoculum reduced the germination time and its protein and nitrogen values were higher. In application tests, the 15 % ferment stood out in barley, matching the height of the control and exceeding the total biomass. In oak, it improved the slenderness index, chlorophyll concentration, and root development.

The results obtained demonstrate that the probiotic ferments obtained through biotransformation of CBSG with *L. rhamnosus* are effective biostimulants that promote plant growth, improve soil properties, and represent a sustainable circular economy alternative for the valorization of brewing waste, contributing to the craft brewing sector.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABLAS	vi
INTRODUCCIÓN	ix
OBJETIVOS	xi
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	11
1.1 Sector agroindustrial	11
1.1.1 Residuos agroindustriales	12
1.1.2 Industria cervecera en México	13
1.1.3 Proceso de producción de la cerveza	14
1.1.4 Industria cervecera artesanal en México	15
1.2 Granos gastados de cerveza (GGC)	16
1.2.1 Composición de los granos gastados de cerveza	17
1.3 Aprovechamiento y biotransformación de residuos agroindustriales	18
1.3.1 Digestión anaerobia	19
1.4 Fermentaciones probióticas y bacterias ácido lácticas	21
1.5 Bioestimulantes	22
1.6 Importancia, distribución y estado de conservación de los bosques a nivel mundial y México	22
1.6.1 Bosque templado	23
1.7 Deforestación y degradación en México	24
1.7.1 Deforestación en Veracruz	25
1.8 Especies de interés forestal: <i>Quercus</i>	27
1.8.1 <i>Quercus laurina</i>	30
1.9 Especies de interés comercial: Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	31
1.10 Estado del arte	35
1.10.1 Antecedentes	35
1.10.2 Avances	37
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1 Metodología experimental	39

2.2 Recolección y acondicionamiento de los gastados de cerveza artesanal	40
2.3 Obtención y propagación de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	40
2.3.1 Inoculación de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	40
2.3.2 Preparación del medio de cultivo	40
2.4 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de los GGCA	41
2.4.1 Caracterización fisicoquímica	41
2.4.2 Caracterización microbiológica	47
2.4.3 Degradación de celulosa	48
2.5 Evaluación de parámetros cinéticos	48
2.6 Proceso de fermentación anaerobio	49
2.6.1 Condiciones de operación del reactor	49
2.7 Obtención de bioestimulante probiótico	49
2.7.2 Muestreo y almacenamiento de las muestras	50
2.7.3 Obtención y preservación del fermento	50
2.8 Obtención de biomasa	51
2.9 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del fermento probiótico	51
2.10 Determinación de ácido láctico	51
2.11 Conteo celular	52
2.11.1 Preparación de diluciones	53
2.11.2 Siembra	53
2.11.3 Incubación	53
2.11.4 Conteo y cálculo de UFC	53
2.12 Diseño experimental para el proceso de fermentación	53
2.13 Obtención de especies de interés	54
2.13.1 Obtención de especie forestal: <i>Quercus</i>	54
2.13.2 Obtención de especie comercial: Cebada	54
2.14 Prueba de germinación y dosis recomendada en especie comercial	55
2.15 Diseño experimental para las especies vegetales	55
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
3.1 Determinaciones fisicoquímicas de los GGCA	57
3.2 Determinaciones microbiológicas de los GGCA	58
3.3 Cinéticas de crecimiento de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	58
3.3.1 Parámetros cinéticos	61
3.4 Identificación de grupos funcionales	62

3.5 Determinación fisicoquímica de fermentos probióticos	64
3.6 Determinación microbiológica de los fermentos probióticos	65
3.7 Determinación de ácido láctico	66
3.8 Cuantificación de biomasa	67
3.9 Prueba de dosis adecuada para la cebada	69
3.10 Análisis de suelo forestal	72
3.11 Germinación de cebada empleando fermentos probióticos	73
3.12 Crecimiento de encino empleando fermentos probióticos	77
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Proceso de aprovechamiento de residuos agroindustriales	13
1.2	Granos gastados de cerveza	17
1.3	Esquema del proceso de DA.	20
1.4	Distribución mundial de área de bosque en el año 2020	23
1.5	Principales causas de pérdida de ecosistemas forestales en el periodo 2001-2022	24
1.6	Áreas Naturales Protegidas Federales de México, enero 2024	25
1.7	<i>Quercus laurina</i>	27
1.8	Bioindicadores: Líquenes	29
1.9	Distribución de <i>Quercus laurina</i> en México.	30
1.10	Composición química del grano de cebada	32
1.11	Producción de cebada de 2013-2019 en miles de toneladas	33
1.12	Producción de cebada por estado, 2019	34
2.1	Metodología general de la investigación	37
2.2	Granos gastados de cerveza artesanal secos	38
2.3	Potenciómetro “Science med”	40
2.4	Balanza analítica “OHAUS PIONEER”	40
2.5	Microdigestor Kjeldahl	42
2.6	Reactores con 5 %, 10 % y 15 % por duplicado	47
2.7	Reactor batch para la obtención de bioestimulantes	48
2.8	Bioestimulantes de 5 %, 10 % y 15 %	49
2.9	Equipo empleado para la determinación de ácido láctico	50
2.10	Lugar de extracción de la especie forestal <i>Q. laurina</i>	52
3.1	a) Comportamiento del pH de fermentación con <i>L. rhamnosus</i> al 5%. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de <i>L. rhamnosus</i> al 5%.	57

Figura		Página
3.2	a) Comportamiento del pH de fermentación con <i>L. rhamnosus</i> al 10%. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de <i>L. rhamnosus</i> al 10%.	58
3.3	a) Comportamiento del pH de la fermentación con <i>L. rhamnosus</i> al 15 %. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de <i>L. rhamnosus</i> al 15%.	59
3.4	Espectro FT-IR biomasa inicial y final: a) 5, b) 10 y c) 15 % de inóculo.	61
3.5	Comparativa de biomasa inicial y final por tratamiento	67
3.6	Nitrógeno y proteínas total de biomasa final e inicial	67
3.7	Experimento de germinación de cebada	72
3.8	Medición de parámetros a) Semillas germinadas, b) Medición de raíces y c) Determinación de biomasa.	72
3.9	a) Biomasa por tratamiento (g), b) Altura de tallo por tratamiento (mm) y c) Longitud de raíz por tratamiento (mm).	74
3.10	Experimento de crecimiento de encino.	75
3.11	Concentración de clorofila (nm) mensual entre tratamientos	76
3.12	Experimento de crecimiento de encino	77
3.13	Evaluación de pH por tratamiento	81
3.14	Presencia de macrofauna y hongos	82
3.15	Fisiología de las hojas por tratamiento a) 5 %, b) 10 %, c) 15 % y d) testigo y bioestimulante comercial	83

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1.1 Sectores agroindustriales de México, enero 2023	11
1.2 Datos históricos de oferta nacional de cerveza artesanal	16
1.3 Composición de los GGC en base seca	18
1.4 Biotransformación de residuos agroindustriales en productos de interés económico y social	19
1.5 Cobertura del tipo de vegetación para Veracruz	26
1.6 Composición química del grano de cebada	31
1.7 Composición y nutrientes del grano de cebada	32
2.1 Determinaciones fisicoquímicas	39
2.2 Factores de conversión de proteína usados para convertir nitrógeno a proteína de diferentes ingredientes alimenticios	44
2.3 Determinación de curva de calibración mediante técnica de diluciones	45
2.4 Determinaciones microbiológicas	45
2.5 Diluciones empleadas en prueba de germinación y dosis recomendada	53
3.1 Resultados fisicoquímicos de los GGCA base seca	55
3.2 Resultados microbiológicos de los GGCA	56
3.3 Parámetros cinéticos del proceso de biotransformación	60
3.4 Caracterización fisicoquímica de los fermentos probióticos	62
3.5 Caracterización microbiológica de los fermentos probióticos	63
3.6 Generación de ácido láctico de los fermentos probióticos	64
3.7 Generación de biomasa de los fermentos probióticos	65
3.8 Diluciones aplicadas en granos de cebada	68
3.9 Germinación de la cebada con diferentes tratamientos	69
3.10 Porcentaje de germinación	69
3.11 Velocidad de crecimiento por día (mm)	69
3.12 Propiedades del suelo	70

Tabla	Página
3.13 Diagnóstico de suelos	71
3.14 Longitud, altura y biomasa total promedio por tratamiento	73
3.15 Variables de medición por tratamiento	78
3.16 Resultados de evaluación por tratamiento	78
3.17 Calidad de planta por tratamiento	79
3.18 Evaluación de pH por tratamiento	81

NOMENCLATURA

AL	Ácido láctico
BAL	Bacterias ácido láctico
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
CONANP	Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
CONAFOR	Comisión Nacional Forestal
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
FAO	Food and Agriculture Organization
FGM	Fondo Golfo de México
GGCA	Granos gastados de cerveza artesanal
GGC	Granos gastados de cerveza
MDD	Millones de dólares
PGPY	Plant growth promoting yeasts
PYMES	Pequeñas y medianas empresas
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles

INTRODUCCIÓN

Las actuales necesidades sociales han generado un crecimiento exponencial en las demandas hacia el sector agroindustrial y como consecuencia se ha generado la acumulación de múltiples residuos lignocelulósicos, como los granos gastados de cerveza, de los cuales no existe un método de disposición adecuado, generando afectaciones severas en el ambiente. Un método previsto para combatir con la creciente acumulación de residuos es la implementación de sistemas de valoración de estos recursos aplicando técnicas de economía circular, la cual, a diferencia de los sistemas económicos tradicionales, brinda múltiples oportunidades comerciales y económicas, al igual que beneficios ambientales (León, 2022). De acuerdo con SIAP (2023), la producción de cerveza en México se posicionó en primer lugar como el sector agroindustrial con mayor superávit con 343 MDD, destacando que México ocupa el 4° lugar mundial como productor de cerveza con una producción alrededor de 125 millones de hectolitros producidos en el año 2019 (Vázquez-Alfaro *et al.*, 2022). Se evidencia que con un nivel tan alto de producción también viene un gran nivel de residuos como las aguas residuales, altas emisiones de CO₂ y residuos sólidos. Entre estos últimos, los granos gastados de cerveza (GGC) representan el principal desecho producido por la industria cervecera durante el paso de maceración y filtración, los cuales no son aprovechados generando impactos ambientales (Santacruz-Salas *et al.*, 2023)

El aprovechamiento de los GGC viene gracias a la composición de estos residuos los cuales, al ser lignocelulósicos, son ricos en lignina, hemicelulosa y celulosa pudiendo ser aprovechados por empresas mediante alternativas como el compostaje, la digestión anaerobia y la fermentación con microorganismos por mencionar algunos procesos, permitiendo la obtención de productos de valor agregados como biofertilizantes, bioenergías o alimentación animal. Actualmente, la aplicación de los GGC está principalmente enfocada en alimento de ganado bovino (Leiva, 2021). Sin embargo, para brindarle mayor valor a este residuo y apoyar a las PYMES locales del sector cervecero, en el presente trabajo de investigación se realizó el manejo y disposición de los granos gastados de cerveceras artesanales (GGCA) de la región de las altas montañas para obtener un bioestimulante a partir de la biotransformación de dicho residuo con

Lactobacillus rhamnosus que cuente con las características necesarias para su posterior aplicación en especies forestal (encino) y comercial (cebada), logrando beneficios ambientales, sociales y económicos.

Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo obtener un bioestimulante de crecimiento vegetal a partir del proceso de biotransformación anaerobia con *L. rhamnosus* a los GGCA aplicados en especies forestales de la zona de las altas montañas y especies comerciales, de tal manera que durante la metodología de este trabajo se hizo la caracterización fisicoquímica y microbiológica de los GGCA y de las biomasas probióticas obtenidas del proceso de biotransformación anaerobia con *L. rhamnosus* y el estudio del efecto de aplicación de las biomasas como bioestimulante de crecimiento, contribuyendo así a las PYMES del sector cervecero artesanal y a los grupos sociales encargados de la reforestación en zonas de riesgo ambiental.

OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener un bioestimulante de crecimiento vegetal a partir del proceso de biotransformación anaerobia con *Lactobacillus rhamnosus* a los granos gastados de cerveza artesanal aplicados en especies forestales de la zona de las altas montañas y especies comerciales.

Objetivos específicos

1. Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente los granos gastados de cerveza artesanal.
2. Implementar el proceso de transformación anaerobia con *L. rhamnosus*
3. Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de las biomasas probióticas obtenidas del proceso de biotransformación.
4. Estudiar el efecto de aplicación de las biomasas probióticas como bioestimulantes de crecimiento en especie forestal y comercial.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Sector agroindustrial

La agricultura es una actividad destinada al desarrollo de diversos cultivos permitiendo satisfacer la demanda de la sociedad, mientras que la agroindustria es la encargada de brindarles un valor agregado a materias primas como verduras, frutas y ganado a través de procesos de producción (Martínez-Prats *et al.*, 2022). Esta relación entre la agricultura y la industria ha generado aportaciones económicas y sociales alrededor del mundo.

Esta industria según lo mencionado por Martínez-Prats *et al.*, (2022), ha sido relevante en el desarrollo económico de los países desarrollados como México. Para enero de 2023 según datos recabados por el SIAP, (2023) México tuvo un superávit de 232 MDD. En la Tabla 1.1 se muestran los productos con mayores aportaciones económicas al país.

Tabla 1.1 Sectores agroindustriales de México, enero 2023.

TIPO	PRODUCTO	SUPERÁVIT (MDD)
AGROINDUSTRIA	Cerveza de malta	343
AGROINDUSTRIA	Tequila y mezcal	292
AGROINDUSTRIA	Productos de panadería	124
AGROINDUSTRIA	Azúcar	118
AGROINDUSTRIA	Artículos de confitería sin cacao	68
AGROINDUSTRIA	Hortalizas cocidas en agua o vapor	51
AGROINDUSTRIA	Frutas conservadas	34
AGROINDUSTRIA	Productos de cereal tostado inflado	29
TOTAL		1, 059 MDD

1.1.1 Residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales, tanto sólidos como líquidos, generados durante el consumo directo de productos agrícolas y/o a lo largo de su desarrollo, representan un desafío para la sustentabilidad del sector agrícola debido a los grandes volúmenes en los que son generados. Ejemplos comunes de residuos agroindustriales son los que provienen de granjas de animales, cultivos de frutas y granos, así como la industria alimentaria. Gutiérrez-Antonio *et al.* (2020) mencionan que en 2014 a nivel mundial 3,045 billones de toneladas de residuos agroindustriales se produjeron y, en México, 75.73 millones de toneladas de materia seca pertenecientes a varios cultivos.

A pesar de ser desechos naturales, su mala gestión genera graves afectaciones al medio ambiente como las emisiones de dióxido de carbono (CO₂) que contribuyen al cambio climático, así como la contaminación de cuerpos de agua afectando ecosistemas y comunidades aledañas (Aguiar *et al.*, 2022). Sin embargo, estos residuos pueden ser aprovechados para la generación de productos con valor agregado de interés comercial y/o social (Gutiérrez-Antonio *et al.*, 2020).

La aplicación de estrategias de valorización permite la obtención de bicomcombustibles y energías como la eléctrica y/o calorífica, Figura 1.1, contribuyendo a la mitigación de efectos negativos al medio ambiente y favoreciendo al modelo de economía circular. No obstante, su aprovechamiento requiere de tecnologías eficientes capaces de superar las limitantes que derivan al trabajar con estos residuos debido a su alto contenido de humedad y baja densidad, lo que dificulta su tratamiento.

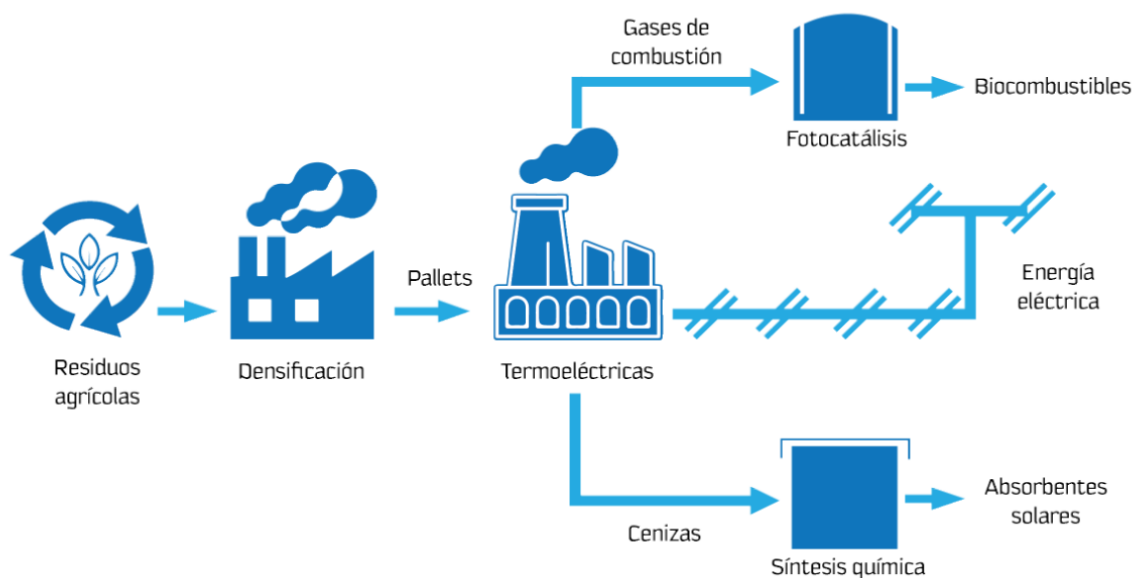


Figura 1.1 Proceso de aprovechamiento de residuos agroindustriales. (Gutiérrez-Antonio *et al.*, 2020).

1.1.2 Industria cervecera en México

En México, la industria cervecera es una de las más relevantes dentro del sector manufacturero ya que de acuerdo con el INEGI, forma parte de las 19 actividades más importantes de un total de 288 actividades económicas de las industrias manufactureras (Martínez, 2020; Censos Económicos, 2019).

Guzmán *et al.*, (2024) destacan que la producción nacional se ha diversificado con nuevas variedades, incluyendo cerveza artesanal y sin alcohol, siendo una fuente económica destacable para el país. En conjunto con la industria tabaquera, aporta el 3.39 % de PIB nacional, posicionándose como la quinta industria manufacturera más relevante del país como expresa Guzmán *et al.*, (2024).

México pertenece a los mayores exportadores de cerveza a nivel mundial

México pertenece a los mayores exportadores de cerveza a nivel mundial con un 27%, superando a Países Bajos (14 %), Bélgica (11 %) y Alemania (9 %) Santacruz-Salas *et al.*, (2023). Asimismo, se posiciona como el cuarto productor mundial por abajo de China,

Estados Unidos y Brasil en base a datos del informe anual 2021 de “Cerveceros de México”.

La industria cervecera en el ámbito social y agrícola representa un beneficio a miles de familias mexicanas: aproximadamente 5,000 familias dependen del cultivo de cebada y alrededor de 700,00 empleos directos e indirectos son generados (Cerveceros de México, 2022). Para su elaboración, se requieren

1.1.3 Proceso de producción de la cerveza

Para su elaboración, la cerveza requiere principalmente de agua, malta, lúpulo y levadura, aunque factores como la temperatura, el tipo de grano, el tipo de levadura, influyen directamente en la calidad de la cerveza.

El proceso de elaboración de la cerveza, conforme a Ramilla *et al.*, (2023), incluye diversas etapas:

- **Molienda:** Trituración de la malta permitiendo una mayor eficiencia de las enzimas en la etapa de la maceración.
- **Maceración:** Mezcla de malta con el agua para la obtención de mosto; el pH, temperatura y tiempo son variables que influyen la actividad enzimática.
- **Filtración:** Separación del mosto para extraer compuestos solubles de los insolubles. En esta etapa se genera el primer residuo: granos gastados también conocido como bagazo de cerveza.
- **Cocción:** Adición del lúpulo al mosto filtrado.
- **Whirlpool:** Extracción de sólidos pesados del producto obtenido en la etapa anterior. Se genera el segundo residuo del proceso: el trub.
- **Enfriamiento:** Disminución de la temperatura del mosto lupulado, permitiendo actuar a las levaduras para llevar a cabo la fermentación.
- **Aireación:** Ajuste del nivel de oxígeno para la adecuada propagación de levaduras.
- **Fermentación:** Los azúcares se fermentan produciendo etanol y CO₂; posterior se realiza la maduración del producto.

- **Clarificación y Filtración:** Dependiendo de la concentración de levaduras y sólidos en suspensión se presentan dos casos:

Para cervezas no filtradas: La clarificación se realiza mediante centrífuga.

Para cerveza filtrada: Se adiciona la etapa de filtración a la clarificación. ´

Carbonatación: Cuando se cuenta con un porcentaje de dióxido de carbono bajo se realiza una inyección de CO₂ para luego ser almacenada.

- **Envasado:** El vidrio, aluminio o barriles son los principales materiales utilizados para el almacenaje del producto final lo que genera diversos residuos tras su consumo.

Finalmente, la producción cervecera se divide en industrial y artesanal, diferenciándose por el volumen de producción, número de etapas e ingredientes involucrados y la presencia o ausencia de filtración y pasteurización Santacruz-Salas *et al.*, (2023).

1.1.4 Industria cervecera artesanal en México

Germán *et al.* (2020), señalan que la industria cervecera en México es un sector relativamente nuevo que ha adquirido fuerza desde 2011, año en que representaba apenas un 0.1 % de la producción nacional. De acuerdo con el estudio “La Cerveza Artesanal. Una experiencia multisensorial” realizado por Deloitte, las primeras cerveceras artesanales mexicanas surgieron a mediados de los años noventa. Para 2017, este sector registró un crecimiento del 59 %, con ventas de 166, 069 hectolitros e ingresos de 420 millones de dólares, según García (2020).

La Tabla 1.2 presenta la evaluación de la oferta nacional de cerveza artesanal entre 2011 y 2018.

Tabla 1.2 Datos históricos de oferta nacional de cerveza artesanal

Periodo	Oferta Nacional de Cerveza Artesanal (Litros)
2011 - 2012	1, 220, 000
2012 - 2013	1, 680, 000
2013 - 2014	2, 500, 000
2014 - 2015	3, 250, 000
2015 - 2016	4, 760, 000
2016 - 2017	7, 560, 000
2017 - 2018	11, 810, 000

Según la Asociación de Cerveza Artesanal (ACERMEX), actualmente Unión Cervecera Independiente, la producción de cerveza artesanal fue de 134.7 millones de hectolitros en 2021, representando un crecimiento del 13.5 % respecto a 2020. Germán *et al.*, (2020) indican que, a pesar de que la Ciudad de México alberga el 21 % de las fábricas, la mayor producción se ubica en Jalisco (34 %), seguido de Nuevo León (15 %).

Finalmente, el impacto ambiental relacionado con la producción de cerveza depende tanto del proceso como el tamaño de la empresa. El gasto de agua y energía, así como la generación de residuos como los granos gastados de cerveza (GGC), representa desafíos ambientales significativos.

1.2 Granos gastados de cerveza (GGC)

El bagazo de cerveza, también conocido como granos gastados de cerveza (GGC), es el principal residuo de la industria cervecera, generado tras la maceración y filtración del grano de malata. Representa alrededor del 85 % de los residuos totales y se producen cerca de 20 kg por cada 100 L de cerveza (Santacruz-Sales *et al.*, 2023),

Su composición incluye lípidos, minerales, vitaminas, aminoácidos y compuestos fenólicos, compuestos que lo hacen atractivo para su valorización. Sin embargo, su alto contenido de humedad (80 % - 90 %), incrementa su impacto ambiental, generando entre 30 % y 60 % de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y de sólidos suspendidos totales (SST) según Santacruz-Salas *et al.*, (2023).

Tradicionalmente, este residuo, como se muestra en la Figura 1.2, y el trub, son destinados a la alimentación animal, sin embargo, su rápida descomposición debido a la actividad microbiana dificulta su manejo y transporte, por lo que se recomienda su secado previo. Múltiples alternativas se han investigado para el aprovechamiento de este residuo para la producción de biocombustibles (Čater *et al.*, 2015; Panjičko *et al.*, 2017) al igual que el biochar en la agricultura, mostrando mejoras en la fertilidad del suelo y el crecimiento vegetal como lo mencionan Manolikaki y Diamadopoulos (2020).



Figura 1.2 Granos gastados de cerveza

1.2.1 Composición de los granos gastados de cerveza

Los GGC se caracterizan por su alto contenido de proteínas y fibra. Según Demilta y Tagliaferro (2024), contienen 15 – 26 % de proteínas y alrededor del 70 % de fibra, constituida por celulosa, hemicelulosa y lignina. En la Tabla 1.3 se resume su composición (Raimilla *et al.*, 2023; Demilta y Tagliaferro, 2024).

Tabla 1.3 Composición de los GGC en base seca.

Componente	Porcentaje (%)
Proteína	15 – 26
Fibra	70
Celulosa	15.5 - 26
Hemicelulosa	28 – 35
Lignina	28
Lípidos	3.9 - 18
Cenizas	2.5 – 4.5
Polifenoles	1.7
Almidón	1.48
Carbohidratos	34

Además, contiene minerales como calcio, fósforo y selenio, así como vitaminas (biotina, colina, niacina, ácido fólico y tiamina) y múltiples aminoácidos, entre ellos leucina, glicina y tirosina (Raimilla *et al.*, 2023).

1.3 Aprovechamiento y biotransformación de residuos agroindustriales

Los residuos lignocelulósicos son ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina, componentes cuya estructura compleja dificulta su degradación natural, es por ello que, al ser sometidos a tratamientos biológicos como fermentación, compostaje, biodegradación o digestión anaerobia, se pueden obtener biomásas de utilidad para la generación de energía, fertilizantes y otros productos de interés, fomentando una economía circular.

La inoculación de agentes microbianos con la característica de desnaturalizar estructuras complejas como la celulosa mejoran su biodegradabilidad y reduce los impactos ambientales relacionados, como la contaminación del agua, aire y suelo (Crespo, 2022).

Conocer la estructura y composición de las biomásas lignocelulósicas es clave para el desarrollo de procesos alternativos para el aprovechamiento y valorización de subproductos generados en actividades agroindustriales (Viteri, 2022). En la Tabla 1.4 se

presentan los procesos de biotransformación para la valorización de residuos agroindustriales y los productos de valor agregado obtenidos.

Tabla 1.4 Biotransformación de residuos agroindustriales en productos de interés económico y social.

Categoría	Producto	Residuo	Proceso de biotransformación
Bioenergéticos y biocombustibles	Biogás	Residuos lignocelulósicos y estiércol	Digestión anaerobia
	Bioetanol	Cáscara de plátano maduro	Hidrólisis enzimática y fermentación
	Biobutanol	Paja de arroz	Hidrólisis enzimática y fermentación
	Biodiesel	Residuos lignocelulósicos	Producción enzimática
Compostaje y uso en recuperación de medios abióticos contaminados	Compostaje	Mostos residuales, bagazo, cachaza, cenizas, cáscaras, bagazo de frutas, tallos y hojas	Biodegradación aerobia y el uso de una mezcla polienzimática
	Remoción de hidrocarburos en el suelo	Residuos de fruta y viruta	Técnica de compostaje
	Adsorbente para remoción de fármacos en aguas residuales	Bagazo de caña de azúcar y olote de maíz	Presencia de grupos activos, cantidades de lignina, celulosa, hemicelulosa y punto de carga cero
Otros productos de interés	Bioplásticos	Tallos de caña fresco, fruta fresca, granos frescos de maíz, cascarilla de arroz y residuos de papa	Uso como celulosa

Dentro de las distintas estrategias de biotransformación de residuos agroindustriales, la digestión anaerobia destaca por ser de las tecnologías más empleadas para la valorización de materia orgánica en productos de alto valor. Este proceso se ha posicionado como una alternativa dentro del modelo de economía circular.

1.3.1 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia (DA) es un proceso biológico donde microorganismos se encargan de degradar materia orgánica en ausencia de oxígeno para la obtención de

productos de valor como el biogás y biofertilizantes. Este fenómeno se aprecia de manera natural en el sistema digestivo de los rumiantes (Cremonez *et al.*, 2021). La aplicación de esta tecnología a residuos orgánicos aparte de brindar productos de valor agregado es que reduce olores y patógenos.

El proceso de DA consta de cuatro etapas principales (Figura 1.3).

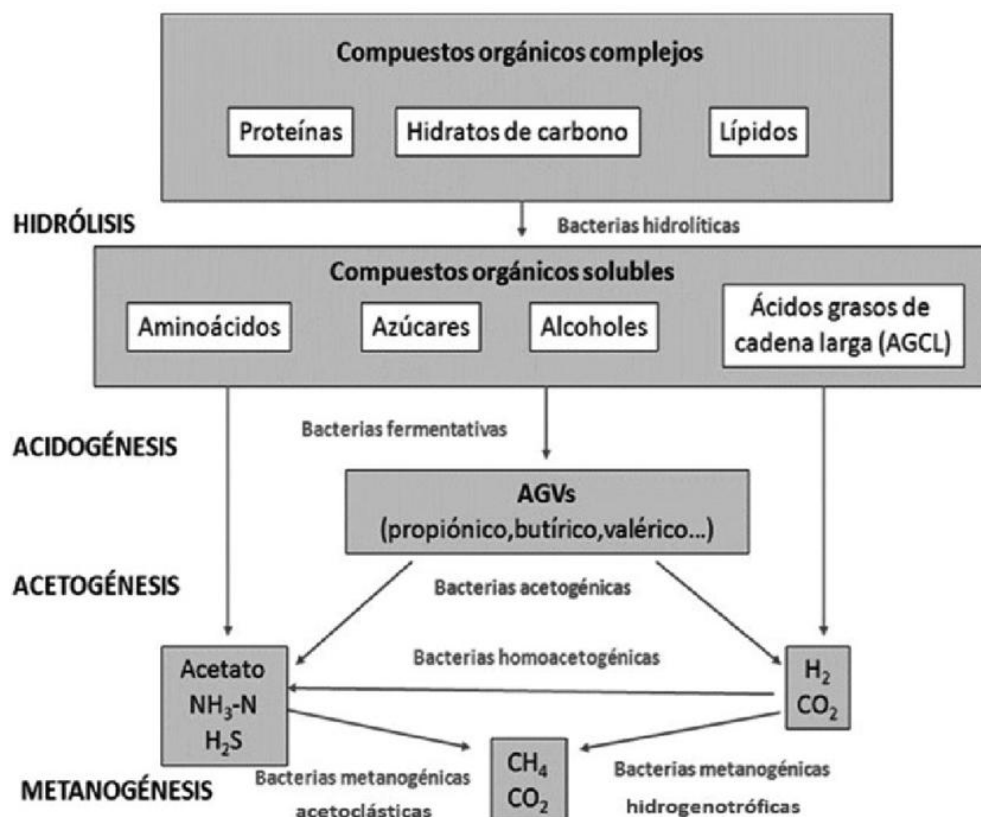


Figura 1.3 Esquema del proceso de DA. (Fernández *et al.*, 2016)

- **Hidrólisis:** Los compuestos complejos se descomponen en moléculas más sencillas y solubles por acción de cepas bacterianas (Mamani *et al.*, 2021).
- **Acidogénesis:** Obtención de ácidos orgánicos a partir del sustrato hidrolizado mediante un proceso de fermentación de bacterias acidogénicas, en esta etapa se genera ácido acético ($\text{CH}_3\text{-COOH}$), hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2).
- **Acetogénesis:** Los ácidos grasos obtenidos en la etapa previa se reducen a ácido acético.

- **Metanogénesis:** En la etapa final el CO_2 , el H_2 y el ácido acético se transforman en metano (CH_4).

A pesar de ser una tecnología prometedora para la degradación de residuos lignocelulósicos, su aplicación puede generar compuestos no deseados como el ácido sulfhídrico, ácido altamente corrosivo y nocivo al medio ambiente. Debido a ello, se busca complementar con alternativas más amigables con el ambiente en ciertos tipos de materiales.

1.4 Fermentaciones probióticas y bacterias ácido lácticas

La fermentación probiótica es un proceso a través del cual cepas microbianas, principalmente bacterias ácido lácticas (BAL), consumen sustratos alimentarios ricos en azúcares, citrato y aminoácidos para producir biomasa y metabolitos de interés industrial y biotecnológico como menciona Latif *et al.*, (2023). Entre estos metabolitos destaca el ácido láctico (AL), lo que convierte a las BAL en agentes clave para la fermentación de alimentos y en la salud humana (F.W.W, 2020). Las BAL, mayoritariamente probióticas, son microorganismos Gram-positivos no esporulados reconocidos como seguros (GRAS) lo que las permiten ser empleadas en alimentos dirigidos al consumo humano (Fernández, 2022).

En función de la ruta metabólica empleada, los lactobacilos pueden clasificarse en dos principales grupos:

- **Homofermentativo:** Principalmente se produce ácido láctico (90 %) a través de la fermentación de la glucosa mediante la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) como menciona Fernández (2022).
- **Heterofermentativo:** A través de la vía de fosfogluconato a parte de producir AL también se generan compuestos como ácido acético, dióxido de carbono, etanol, mediante la vía fosfogluconato donde aproximadamente el 50 % de la glucosa se transforma en AL.

El término probiótico proviene del griego “*pro*” y “*bios*”, que se refiere “a favor de la vida”. Estos microorganismos vivos y no patógenos brindan múltiples beneficios al consumidos

al ser administrada en cantidades adecuadas (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2022; Pandey *et al.*, 2022), Los *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc* pertenecen a esta categoría como destaca Silveyra *et al.* (2022).

Lactobacillus rhamnosus, bacteria ácido láctica ubicada principalmente en el tracto intestinal humano (Suisse *et al.*, 2023) gracias a sus múltiples beneficios a la salud ha generado que esta cepa probiótica gane popularidad dentro de la población como suplemento nutricional en alimentos funcionales brindando beneficios a la salud intestinal (Tong *et al.*, 2021) (Wonglaphsuwan *et al.*, 2024). (Wu *et al.*, 2020) en su trabajo de investigación ha demostrado su eficiencia para el tratamiento de infecciones resistentes a diversos medicamentos como *E.coli* y *Staphylococcus aureus*.

1.5 Bioestimulantes

Los bioestimulantes, como lo describen López-Padrón *et al.* (2021) son sustancias o microorganismos orgánicos o inorgánicos encargados de estimular en las plantas su eficiencia nutricional, mayor tolerancia al estrés abióticos y mejorar la calidad del cultivo sin importar su contenido de nutrientes. Esto es gracias a las sustancias bioactivas que los conforman promoviendo la absorción y la eficiencia de asimilación de nutrientes (Franzoni *et al.*, 2022).

1.6 Importancia, distribución y estado de conservación de los bosques a nivel mundial y México

Los bosques cubren 31% de la superficie terrestre, equivalente a 39 millones de km², y son esenciales por su aporte social y ambiental, proporcionando recursos maderables, minerales y funciones ecológicas dentro de las cuales destaca la captación de carbono, retención de suelos y la recarga hídrica como destaca Barrios-Calderón (2022). En 2020, la distribución global de bosque fue: 45 % tropicales, 27 % boreales, 16 % templados y 11 % subtropicales (FAO, 2020). Esta distribución se muestra en la Figura 1.4.

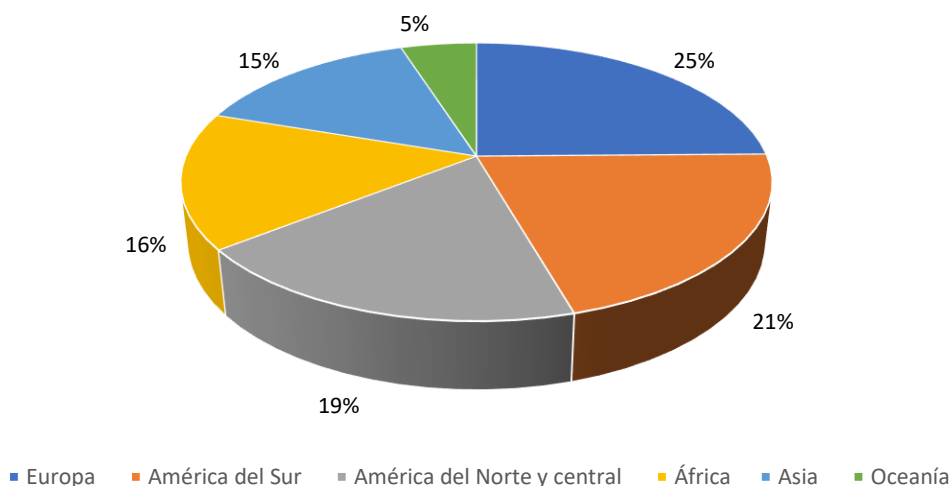


Figura 1.4 Distribución mundial de área de bosque en el año 2020 según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Sin embargo, el aumento poblacional y la explotación excesiva ha ocasionado deforestación y degradación de los ecosistemas, reduciendo recurso y afectando la biodiversidad y el clima. La deforestación, frecuentemente resultado de prácticas ilegales, provoca pérdida de biodiversidad, escasez de agua y alteraciones climáticas según Valdez y Cisneros (2020). Se estima que pueden absorber hasta 24 % de las emisiones nacionales de GEI, contribuyendo a los compromisos del Acuerdo de París, que contemplan una reducción del 22 % de emisiones para 2030 (Programa Nacional Forestal 2020-2024, 2020).

1.6.1 Bosque templado

Los bosques templados, también conocidos como bosques de: coníferas y mixtos de pino y encino (SEMARNAT, 2018), se caracterizan por conformarse de géneros como *Pinus*, *Abies*, *Pseudotsuga*, *Cupressus*, *Juniperus* y *Quercus* (Silva et al., 2021). Estos ecosistemas están asociados a zonas montañosas debido a factores climáticos y de altitud (Graciano-Ávila et al., 2020) y abarcan 46 millones de hectáreas, equivalentes al 24 % del territorio nacional (Manzanilla et al., 2020; Barrios-Calderón, 2022). De esta superficie, aproximadamente 323,305 km² proveen recursos maderables y no maderables, además de albergar alta biodiversidad según lo reportado por Flores et al., (2021).

Se distribuye principalmente en la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur y la Faja Volcánica Transversal, regiones que contienen más de la mitad de las especies de pinos y encinos del país y 3% de los taxas de *Quercus* del mundo (Manzanilla *et al.*, 2020). No obstante, alrededor del 45 % de estas áreas presentan degradación por actividades como tala ilegal, agricultura, incendios y enfermedades (Flores *et al.*, 2021).

1.7 Deforestación y degradación en México

La deforestación genera gran pérdida de biodiversidad e incremento en emisiones de GEI (Flores *et al.*, 2021). Entre 2001 y 2022, el Sistema Nacional de Monitoreo Forestal reportó una pérdida promedio anual de 208,746 hectáreas de cobertura forestal. México presenta una de las mayores tasas de deforestación en Latinoamérica, con una pérdida anual de 1.9 % (Hernández-Pérez *et al.*, 2022). La Figura 1.5 presenta las principales causas que generaron la pérdida de ecosistemas forestales.

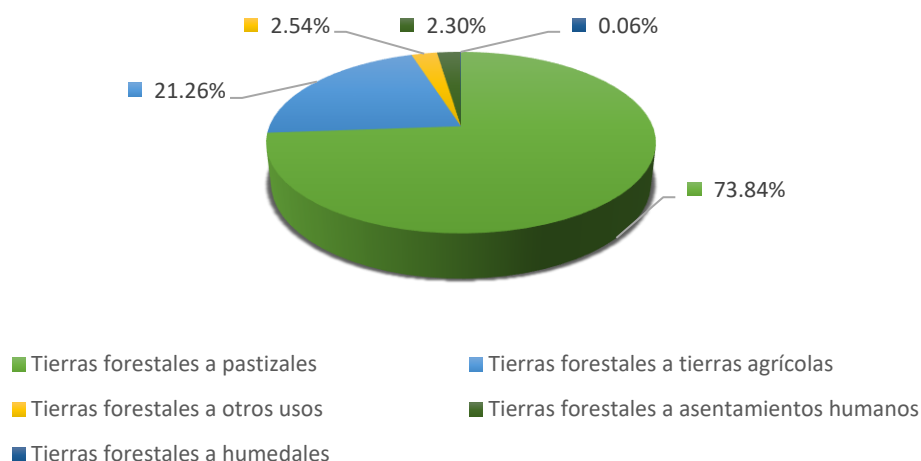


Figura 1.5 Principales causas de pérdida de ecosistemas forestales en el periodo 2001-2022.

Para compensar esta problemática, el país a partir de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) han implementado acciones como certificación forestal, reforestación y creación de áreas naturales protegidas (ANP) administradas por la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), con 232 ANP

registradas (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2024), mostradas en la Figura 1.6, así como programas de pago por servicios ambientales (PSA), orientados al incentivo económico para conservar ecosistemas y funciones como secuestro de carbono, regulación hídrica y protección de hábitats (Von *et al.*, 2021).

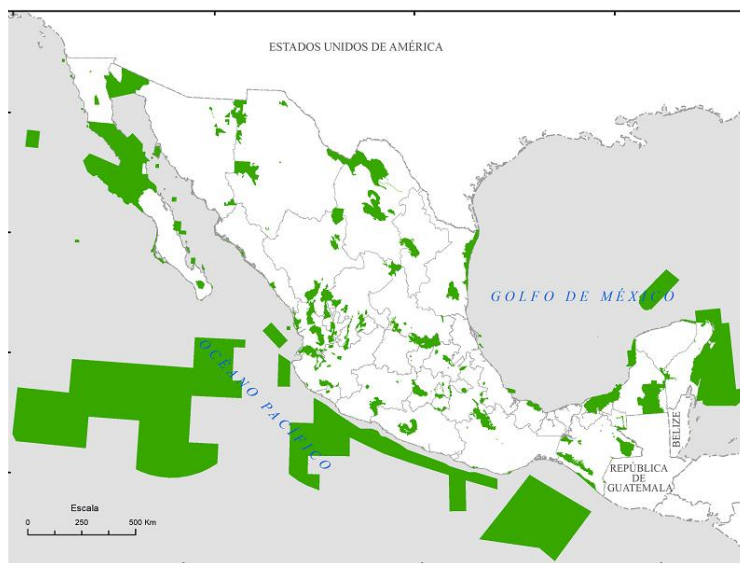


Figura 1.6 Áreas Naturales Protegidas Federales de México, enero 2024.

Sin embargo, algunos programas agrícolas como Procampo y Alianza para el Campo han promovido el cambio de uso de suelo, favoreciendo la deforestación (Schmook y Vance, 2009).

1.7.1 Deforestación en Veracruz

Veracruz es el tercer estado del país con mayor diversidad, como se muestra en la Tabla 1.5, y uno de los nueve con mayores endemismos, gracias a la transición entre las regiones biogeográficas neártica y neotropical (FGM, 2022; Hernández-Pérez *et al.*, 2022). No obstante, sufre pérdida de cobertura forestal y fragmentación, especialmente en bosques mesófilos de montaña debido a actividades agrícolas y ganaderas (Hernández-Pérez *et al.*, 2022).

Tabla 1.5 Cobertura del tipo de vegetación para Veracruz.

Ecosistemas	Tipo de vegetación (ha)
Pastizales	3 254 999
Vegetación secundaria	798 519
Bosques tropicales perennifolios	251 505
Bosques mesófilos de montañas	136 428
Popal-tular	126 299
Bosque de pino	52 826
Manglares	43 021
Bosque de pino-encino	26 253
Bosque de encino	20 100
Bosques tropicales caducifolios	22 843
Dunas costeras	18 167
Matorrales xerófilos	9391
Bosque tropical subcaducifolio	1432
Bosque de galería	128
Bosque de abeto y oyamel (<i>Abies</i>)	1507
Bosque de táscate (<i>Juniperus</i>)	110
Palmar	2975
Total	4 766 503
Superficie estatal	7 182 040

La degradación de la cobertura vegetal ha incrementado por el cambio de suelo, afectando tanto bosques de pino como de encino. Esta problemática, genera fragmentación, pérdida de biodiversidad e incremento en gases de efecto invernadero, lo que resalta la necesidad de estipular estrategias de conservación para mantener el equilibrio ecológico y apoyar al bienestar comunitario en base a lo mencionado por Hernández-Pérez *et al.*, (2022).

Además, Veracruz presenta una alta tasa de incendios forestales. En 2023, se registraron alrededor de 269 incendios forestales, afectando 2,305.35 hectáreas, de las cuales 1,296.70 ha correspondieron a estrato arbustivo, 190.53 ha a estrato herbáceo y 40.63 ha a arbolado adulto según cifras de la CONAFOR (2023). Los municipios con mayor número de incendios reportados fueron: Perote (75), Soteapan (20), Maltrata y Mecayapan (19) y Ayahualulco (14), mientras que los mayores daños de superficie se presentaron en Ixhuacán de los Reyes (373.69 ha), Mecayapan (367.14 ha) y La Perla (172.14 ha) (CONAFOR, 2023).

Respecto al tipo de vegetación afectada, 118 incendios ocurrieron en bosques de pino, 72 en bosques mixtos de pino-encino, 9 en selvas baja caducifolia y 19 en otros tipos de vegetación (CONAFOR, 2023).

1.8 Especies de interés forestal: *Quercus*

El género *Quercus* (roble) (Figura 1.7), perteneciente a la familia *Fagaceae*, incluye alrededor de 500 especies convirtiéndolo en una planta leñosa con mayor distribución e importancia a nivel mundial, específicamente en el hemisferio norte (Valencia-A, 2004) (Escandón *et al.*, 2021).

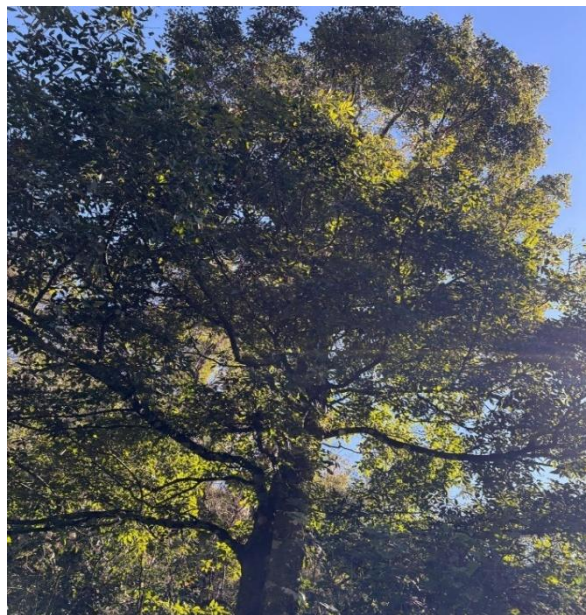


Figura 1.7 *Quercus laurina*

Estas especies, pueden presentarse como arbusto o árboles, se distribuyen en bosques templados del hemisferio norte y zonas tropicales de acuerdo a Taib *et al.*, (2020). En América, su distribución abarca desde Canadá hasta Colombia, incluyendo Cuba (Valencia-A, 2004), mientras que en México su distribución va desde el norte hasta el sur del país en altitudes entre 1200 y 2800 m s. n. m (Gutiérrez *et al.*, 2021).

Este género cuenta con una alta frecuencia de hibridación natural, cuando dos especies coexistentes florecen a la par, fenómenos influenciados por factores ambientales locales y la estructura espacial de las comunidades como menciona Vaca-Sánchez *et al.* (2021).

La especie *Quercus* cuenta con una gran importancia ecológica gracias a su contribución a la conservación del agua y suelo, siendo la madera, la corteza y las bellotas sus partes más aprovechadas (Flores y González, 2021; Morales, 2021). Su relevancia de igual forma destaca en la parte cultural y medicinal ya que en el trabajo de investigación de Taib *et al.*, (2020), destacan el uso de esta especie por pueblos indígenas para el tratamiento de problemas gastrointestinales y heridas.

México es un centro clave de diversificación de encinos, con 170 especies, de las cuales 100 son endémicas, convirtiéndolo en el país con mayor variedad de *Quercus* (Flores *et al.*, 2021; Vaca-Sánchez *et al.*, 2021; Valencia-A, 2004). La principal distribución de esta

especie es en los estados de Oaxaca, Nuevo León, Jalisco, Chihuahua y Veracruz (Protección al Ambiente, 2020). Sin embargo, los bosques de encino enfrentan amenazas provocadas por incendios forestales, plagas, sequías y actividades antropogénicas como destaca Alfaro-Reyna *et al.* (2022), situación que se refleja también en Europa, Oriente Medio y América del Norte (Escandón *et al.*, 2021). Además, Girón *et al.*, (2023) resaltan la relevancia ecológica de estos bosques gracias a la presencia de líquenes, microorganismos simbióticos esenciales para la salud de los ecosistemas montañosos.

Los líquenes (Figura 1.8), pertenecientes al reino *Fungi*, representan aproximadamente una quinta parte de las 1.5 millones de especies estimadas de hongos (Nimis *et al.*, 2002) y consisten en asociaciones mutualistas entre hongos, algas y cianobacterias que sirven como unidad biológica (Poulsen, 202; Hawksworth *et al.*, 2005). Estos organismos benefician a la biomasa total de los bosques, al reciclaje de minerales y a la fijación de nitrógeno (Sánchez-Girón *et al.*, 2023), además sirven como alimento, camuflaje y material de anidación, así como desempeñar un papel crucial en la retención de agua y regulación del nivel freático (Chavarría-Valverde *et al.*, 2024).



Figura 1.8 Bioindicadores: Líquenes

Los líquenes también son reconocidos como bioindicadores sumamente empleados en ecosistemas terrestres, cuya presencia depende de factores como la estructura del

bosque, la edad, la cobertura del dosel (estrato superior de los bosques formado por ramas y hojas cuya relevancia contribuye al ciclo del agua, impedimento de la erosión de suelos e inundaciones, entre numerosos beneficios), la diversidad arbórea y el manejo forestal (Sánchez-Girón *et al.*, 2023). Su importancia incluye que son capaces de medir la contaminación atmosférica, cambios climáticos y la estabilidad del suelo; sin embargo, debido a que las técnicas de medición suelen ser costosas, los líquenes han emergido como una alternativa frecuente para la medición de contaminación en áreas extensas (Hawksworth *et al.*, 2005).

1.8.1 Quercus laurina

Quercus laurina también conocido como *Quercus zempoaltepecana* o *Quercus ocoteifolia* se distribuye desde Honduras, El Salvador, Guatemala y México. Dentro del territorio mexicano, como se muestra en la Figura 1.9, se distribuye en Nuevo León, Tamaulipas, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, Ciudad de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Habita principalmente en bosques de niebla, encino, pino-encino y pino-encino-abeto en altitudes de 1600 a 3000 msnm hasta 3650 msnm (Salazar, 2024).

Los *Quercus* se clasifican en dos secciones principales: *Quercus* (roble blancos) y *Lobatae* (roble rojos). *Quercus laurina* es un roble mexicano perteneciente a los *Lobatae* y presenta alturas entre 10 y 30 m en bosques mixtos de pino-encino (Vaca-Sánchez *et al.*, 2021), pudiendo alcanzar alturas de 35 m en ejemplares adultos (Salazar, 2024).



Figura 1.9 Distribución de *Quercus laurina* en México.

Debido a sus rectos troncos, el uso de esta especie está destinada principalmente para la obtención de postes, tablas, leña y carbón. Según Jerome (2018), en la REDlist de la UICN, *Quercus laurina* no se considera una especie en peligro gracias a su amplia distribución; sin embargo, actividades antropogénicas como tala, incendios y pastoreo representan una amenaza que comprometen la estabilidad de las poblaciones de robles.

1.9 Especies de interés comercial: Cebada (*Hordeum vulgare* L.)

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es una especie resiliente y tolerante a diversas condiciones ambientales, lo que permite su amplia distribución global. (Abewaw ,2021).

La composición y principales componentes del grano, expresados en porcentaje de materia seca, se presentan en las Tabla 1.6 y 1.7, mientras que su composición química general se ilustra en la Figura 1.10.

Tabla 1.6 Composición química del grano de cebada

Componente	% de materia seca
Carbohidratos	78 - 83
Almidón	63 - 65
Sacarosa	1 - 2
Otros azúcares	1
Polisacáridos solubles en agua	1 - 1.5
Polisacáridos solubles en álcali	8 - 10
Celulosa	4 - 5
β -glucano	1 - 4
Lípidos	2 - 3
Proteínas	10 - 12
Albúminas y globulinas	3.5
Prolaminas (hordeinas)	3 - 4
Glutelinas (hordeinas)	3 - 4
Ácidos nucleicos	0.2 - 0.3
Minerales	2
Otros	5 - 6

Tabla 1.7 Composición y nutrientes del grano de cebada.

Fracción	% del grano (por peso)	Nutrientes clave
Cascarilla	9 - 14	Celulosa, lignina, silica, compuestos fenólicos
Pericarpio	5.5 - 6.5	Celulosa y lípidos
Capa de aleurona	11 - 13	Lípidos, proteínas, β -glucano, arabinxilano, minerales y vitaminas
Embrión	2.5 - 4.0	Lípidos, proteínas de almacenamiento, celulosa, azúcares, minerales y vitaminas
Endosperma	65 - 68	Almidón, proteínas, β -glucano y arabinoxilano

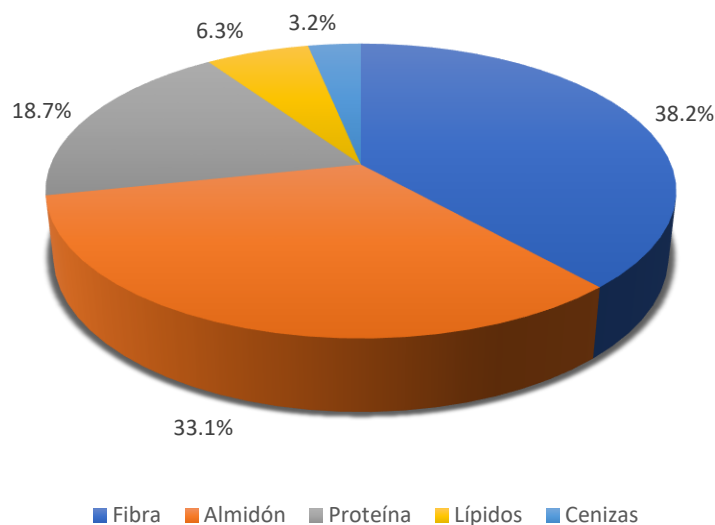


Figura 1.10 Composición química del grano de cebada (Abebew, 2021).

En México, la cebada es un insumo esencial para la industria cervecera, donde aproximadamente el 80 % de la producción nacional es destinada a la elaboración de malta. De acuerdo con los Censos Económicos (2019), la producción de malta para la cerveza mostró incrementos en la mayoría de los años entre 2013 y 2019, con una tasa de crecimiento promedio anual de 3.2 %. Durante 2020, la superficie sembrada en el país fue de 317,256.08 hectáreas (García *et al.*, 2022). A nivel mundial, México ocupa el lugar 27 en producción de cebada, con 1,008,642 toneladas y una superficie sembrada de 352,113 hectáreas (Núñez, 2020). Además, desde 2016 la producción nacional de mantuvo por arriba de las 900 mil toneladas (Censos Económicos, 2019), como se muestra en la Figura 1.11.

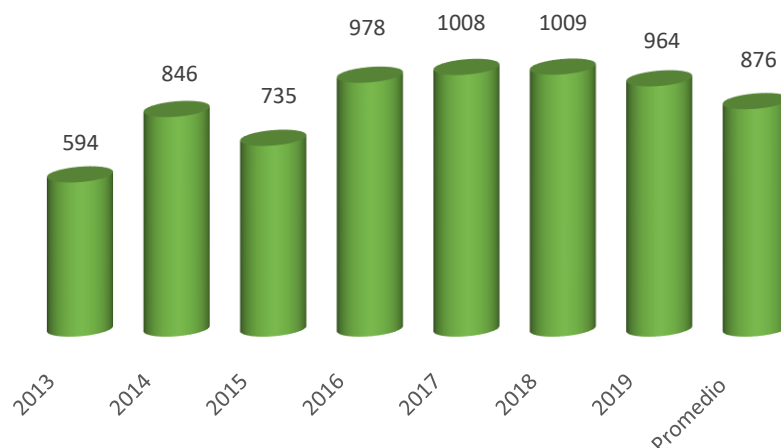


Figura 1.11 Producción de cebada de 2013-2019 en miles de toneladas (Censos Económicos, 2019).

El cultivo de cebada simboliza una importante derrama económica para los estados productores (Rivera, 2022). En 2019, el 99.6 % de la producción nacional se concentró los estados presentados en la Figura 1.12 (Censos Económicos, 2019).

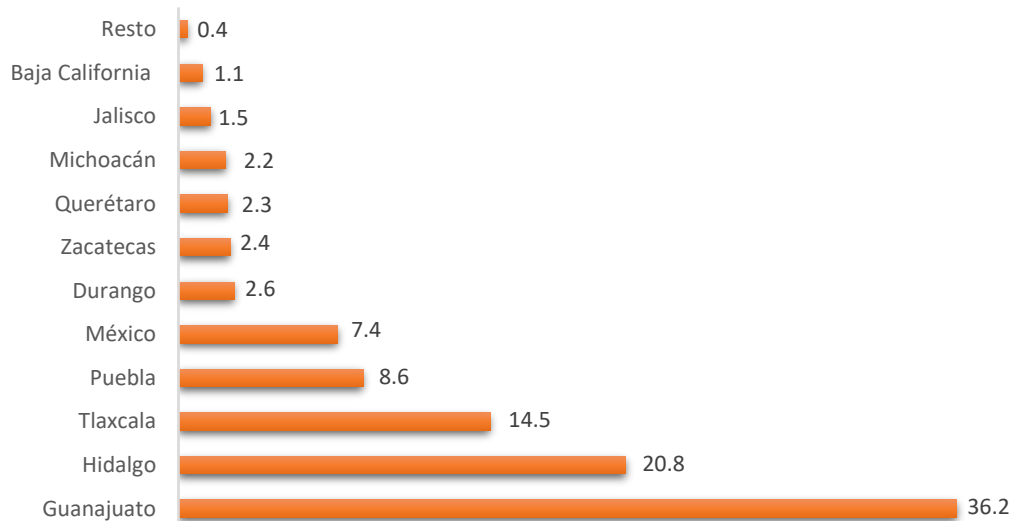


Figura 1.12 Producción de cebada por estado, 2019 (Censos Económicos, 2019).

1.10 Estado del arte

1.10.1 Antecedentes

A continuación, se presentan trabajos de investigación enfocados en la biotransformación de GGC para obtener productos de valor agregado.

Caballero *et al.* (2020), diseñaron un bioproceso para transformar el suero lácteo en productos de alto valor agregado con propósitos ambientales y agronómicos. El proceso implica fermentación con *L. rhamnosus*, seguida de separación de ácido láctico, péptidos, aminoácidos y biomasa. Estos productos actúan como bioestimulantes y biocontroladores del suelo, promoviendo el crecimiento de plantas y protegiéndolas de organismos patógenos. El *Lactobacillus rhamnosus* también muestra actividad biocontroladora contra microorganismos fitopatógenos.

Marcus y Fox (2021), valoraron el potencial del GGC como sustrato para la biotransformación empleando hongos filamentosos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Rhizopus*) con la finalidad de obtener alimento de ganado de alto valor nutricional y bioetanol permitiendo un aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos en productos de valor agregado aplicando un modelo de economía circular.

Eliopoulos *et al.* (2022), evaluaron el proceso de fermentación en estado sólido (FES) de los granos gastados de cerveza empleando el hongo *Pleurotus ostreatus* con la finalidad de transformar estos residuos en un alimento destinado a la alimentación animal con un valor nutricional elevado y disminuir el impacto ambiental por parte de las industrias cerveceras. Tras el proceso de fermentación, se logró un incremento en la calidad nutricional de los GGC gracias a su incremento proteico (alrededor del 49.49 % de proteínas) convirtiéndolo en un insumo benéfico a la alimentación animal.

Bianco *et al.* (2024), evaluaron sustratos hechos a base de GGC buscando una alternativa a los biofertilizantes de origen mineral para su uso como biofertilizante en el trasplante de lechuga, *Lactuca sativa* L. Para esto, se realizó la comparación de cuatro sustratos: biocarbón, vermicompost, compost y compost mezclados con un consorcio microbiano, todos estos combinados al 2 y 4 % con turba. Los sustratos se compararon

contra dos tratamientos control: turba al 100% y turba con fertilizante químico. El desarrollo de raíces de la lechuga muestra que estos biofertilizantes son útiles para el crecimiento de hortalizas de hoja en viveros.

Granget *et al.* (2024), produjeron ácido L-láctico mediante la hidrólisis enzimática de GGC con *Lactobacillus rhamnosus*, con la finalidad de ser utilizado como fuente de carbono, proteínas y minerales. Parámetros como concentración de glucosa, alimentación de glucosa a la fuente de proteína y concentración de inóculo se consideraron para obtener una mejor producción de ácido L-láctico evitando así la producción en exceso de biomasa bacteriana para finalmente comparar el ácido L-láctico obtenido de la hidrólisis de los GGC con el ácido L-láctico comercial.

Outeirino *et al.* (2024), obtuvieron compuestos bioactivos, como el ácido láctico, a través de una hidrólisis enzimática de los GGC para posteriormente ser sometido a una fermentación probiótica empleando *Lactobacillus pentosus* y *Lactobacillus plantarum*. Tras la fermentación se obtuvieron altos rendimientos de ácido láctico y biosurfactantes microbianos demostrando que los GGC son un recurso relevante para el desarrollo de biorrefinerías empleando residuos lignocelulósicos como materia prima.

Kalak (2025), evaluó el potencial del bagazo de cerveza como bioadsorbente destinado a la remoción de metales y contaminantes orgánicos tras presentar una alta densidad de poros y gran área superficial al ser sometido a una microscopía electrónica de barrido. Gracias a esto tiene la capacidad de adsorber diversos cationes (tierras raras, Cr^{3+} , Pb^{2+} y Cu^{2+} por mencionar solo algunas) convirtiéndolo en una alternativa más amigable, pero con la misma efectividad que la de un adsorbente.

Saldarriaga-Hernández *et al.* (2025), demostraron el potencial de los GGC para la obtención de subproductos de interés a través de la degradación de este empleado el hongo *Ganoderma lucidum*. Tras este proceso se obtienen múltiples productos como lo son el etanol, vinaza bioactiva, presentando un efecto estimulante en la germinación de semillas de jitomate, y biomasas fúngicas evidenciando que los GGC contribuyen a la economía circular.

1.10.2 Avances

A continuación, se presenta el avance más reciente con respecto al tema de investigación favoreciendo a una mayor comprensión de los procesos involucrados.

Estrada-García *et al.* (2024) evaluaron el proceso de biotransformación anaeróbica de los CBSG empleando dos cepas de bacterias del ácido láctico (BAL), *Lactobacillus casei* y *Bacillus subtilis*, así como sus efectos sobre las propiedades reológicas al final del proceso. Los resultados obtenidos demostraron que la biotransformación con BAL puede ser una estrategia óptima para la valorización de residuos lignocelulósicos gracias a la acción de los probióticos, ya que estas bacterias tienen la habilidad de degradar compuestos complejos para la obtención de biomásas, de alto valor nutricional con cualidades energéticas y económicas, las cuales cuentan con un potencial nutricional por el aumento en su contenido de proteínas y disminución de contenido de carbohidratos.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Metodología experimental

En la Figura 2.1 se muestra la metodología utilizada dividida en 5 etapas para el cumplimiento de los objetivos específicos estipulados en el trabajo de investigación.

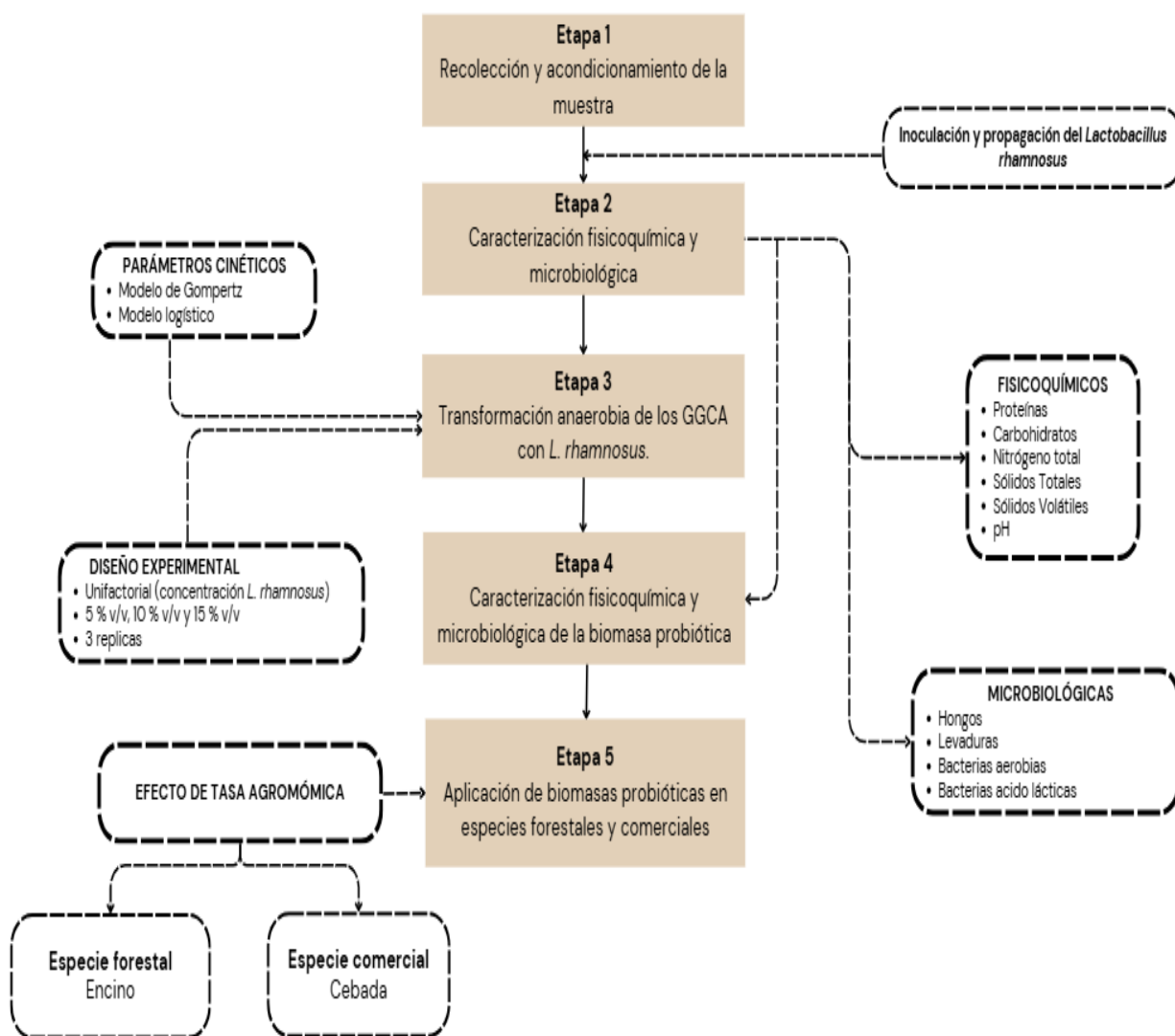


Figura 2.1 Metodología general de la investigación

2.2 Recolección y acondicionamiento de los gastados de cerveza artesanal

Los GGCA se obtuvieron de una cervecera artesanal de la ciudad, ubicada en la región de Orizaba, Veracruz recolectadas en bolsas de plástico. Previo a la caracterización, se pretrató el residuo mediante un secado en la estufa durante 24 h a 105 ± 2 °C para disminuir la cantidad de humedad para ser triturados y tamizados con una malla 50 logrando la reducción de la muestra para finalmente hacer diluciones con los GGCA 1:4 y se almacenó a 4°C en el refrigerador hasta su uso.



Figura 2.2 Granos gastados de cerveza artesanal secos.

2.3 Obtención y propagación de *Lactobacillus rhamnosus*

2.3.1 Inoculación de *Lactobacillus rhamnosus*

El lactobacilo se obtuvo del producto comercial Lyofast LA 3 (SACCO System), el *Lactobacillus rhamnosus* está liofilizado y se obtuvo de la empresa Raff, industria proveedora de materia prima y especializada en brindar servicios de la industria alimentaria, enfocada principalmente en la industria de la leche y sus derivados. El empaque adquirido que contiene alrededor de 10 dosis, con número de lote C360569A.

2.3.2 Preparación del medio de cultivo

El cultivo de *Lactobacillus rhamnosus* se realizó en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe). Para esto se disolvieron 5.5 g de caldo en 100 mL de agua destilada a agitación constante

hasta disolver. La propagación del lactobacilo se realizó pesando 0.5 g del *Lactobacillus rhamnosus* liofilizado inoculándolo en 10 mL de caldo (tubo madre). Una vez inoculado el *L. rhamnosus* en el tubo madre se emplearon 5 tubos con 10 mL de caldo MRS repitiendo la técnica antes descrita para finalmente ser incubados por 24 horas a 40° C.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación los tubos con el lactobacilo se almacenan en el refrigerador a una temperatura de 4° C.

2.4 Caracterización fisicoquímica y microbiológica de los GGCA

Para la determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la muestra de los GGCA, con la finalidad de conocer las propiedades y composición de este residuo, cada experimentación se realizó por triplicado.

2.4.1 Caracterización fisicoquímica

En la Tabla 2.1 se muestran los parámetros fisicoquímicos junto con el método realizado a la dilución de los GGCA.

Tabla 2.1 Determinaciones fisicoquímicas

Determinación fisicoquímica	Método	Unidad
pH	Potenciométrico	---
Sólidos Totales	2540 G, Standard Methods	% mg
Sólidos Volátiles	2540 G, Standard Methods	% mg
Nitrógeno Total	4500-NTK C, SM	mg/kg ST
Carbohidratos	Antrona-sulfúrico	g/L
Proteínas	Método Kjeldahl	%

- **pH:** Para la determinación de pH, se realizó la medición directa de la muestra con ayuda del potenciómetro de la marca “Science med” (Figura 2.3).



Figura 2.3 Potenciómetro “Science med”.

- **Sólidos totales:** Para determinar los sólidos totales (ST) de la dilución de GGCA se empleó el método descrito en el método estándar 2540 G para el análisis del agua y aguas residuales (Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 2017). Para esta técnica se emplearon la balanza analítica marca “OHAUS PIONEER” (Figura 2.4), estufa de secado con temperatura de operación de $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, crisoles de porcelana y desecador.



Figura 2.4 Balanza analítica “OHAUS PIONEER”.

La Ecuación 2.1 presenta el cálculo realizado para la determinación del porcentaje de sólidos totales de la muestra.

$$\%ST = \frac{M_3 - M_1}{V} * 100 \quad (2.1)$$

Donde:

M_3 : Peso del crisol con la muestra después de la evaporación, en gramos (g)

M_1 : Peso del crisol vacío a peso constante, en gramos (g)

V: Volumen de la muestra, en mL

- **Sólidos totales volátiles:** Se emplea la metodología descrita en el método estándar 2540 G (Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 2017) para el análisis del agua y aguas residuales. Los equipos empleados son los mismos que se utilizaron para los ST y se incluyó el uso de una mufla eléctrica con una temperatura de operación de $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La Ecuación 2.2 presenta la fórmula utilizada para la determinación del contenido de sólidos totales volátiles (STV) contenidos en la muestra.

$$\%STV = \frac{M_3 - M_4}{V} * 100 \quad (2.2)$$

Donde:

M_3 : Peso del crisol con la muestra después de la evaporación, en gramos (g)

M_4 : Peso del crisol con la muestra después de la calcinación, en gramos (g)

V: Volumen de la muestra, en mL

- **Humedad:** Para la determinación del porcentaje de humedad se realizó mediante diferencia de pesos. El secado de la muestra se realizó en la estufa en un rango de 110 a 120° C por una hora. La ecuación 2.3 se utilizó para determinar el porcentaje de humedad.

$$\%H = \left[\frac{(Peso_{inicial} - Peso_{final})}{Peso_{inicial}} \right] * 100 \quad (2.3)$$

Donde:

$Peso_{inicial}$: Peso de la muestra, en gramos (g)

$Peso_{final}$: Peso del crisol con la muestra después del secado, en gramos (g)

- **Nitrógeno total:** Para la determinación de nitrógeno total se empleó el método Kjendal basado en la combustión húmeda de la muestra para ser calentada ante la presencia de catalizadores. Los equipos empleados para la metodología constaron de un microdigestor como se muestra en la Figura 2.5, microdestilador, matraces balón de 100 mL de capacidad y balanza analítica.



Figura 2.5 Microdigestor Kjeldahl.

Los catalizadores empleados en la metodología fueron sulfato de cobre (CuSO_4), sulfato de potasio (KSO_4) y selenio en polvo. Los reactivos que se utilizaron en la determinación de nitrógeno fueron ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y al 0.02 N, ácido bórico (BH_3O_3), hidróxido de sodio (NaOH), rojo de metilo y azul de metileno.

La Ecuación 2.4 representa el cálculo realizado para determinar el porcentaje de nitrógeno de la muestra.

$$\% \text{ N} = \frac{G * N * 0.014}{M} * 100 \quad (2.4)$$

Donde:

G: Mililitros de la solución gastados en la titulación

N: Normalidad de la solución usada en la titulación

0.014: Mili equivalente de nitrógeno

M: Peso de la muestra en gramos o volumen en mililitros

- **Proteínas:** La determinación de proteínas se hace en base a los resultados obtenidos del porcentaje de nitrógeno total, para ello, los porcentajes de nitrógeno obtenidos se multiplican por el valor de 6.25 que es el factor presente en la Tabla 2.2 que corresponde al factor de la cebada.

Tabla 2.2 Factores de conversión de proteína usados para convertir nitrógeno a proteína de diferentes ingredientes alimenticios.

Material	Factor (F)
Harina de trigo entera	5.83
Harinas (no enteras)	8.7
Macarrones	5.7
Salvado	6.31
Arroz	5.95
Cebada, avena, centeno	5.83
Maíz	6.25
Soya	5.71
Nueces, cacahuete	5.41
Almendra	5.18
Otras nueces	6.3
Leche y productos lácteos	6.38
Gelatina	5.55
Otros alimentos	6.25

- **Carbohidratos:** Para esta determinación, se utilizó el método de la antrona-sulfúrico. El equipo requerido para esta técnica constó de un espectrofotómetro de la marca “Thermo Scientific Genesys 20”, placa de calentamiento y termómetro. El reactivo empleado para la determinación de carbohidratos consta de una solución de antrona-sulfúrico (Antrona - H_2SO_4).

La lectura de las absorbancias de la de la solución de antrona con las muestras se hizo mediante el espectrofotómetro a 620 nm para posteriormente realizar la gráfica de absorbancia y concentración para determinar la regresión lineal, Ecuación 2.5, y evaluar el valor de R^2 .

$$y = mx + b \quad (2.5)$$

Empleando la ecuación lineal se determinó la concentración de carbohidratos presentes en las muestras de GGCA a través de las lecturas de absorbancia. Una vez obtenidas las concentraciones de carbohidratos, se multiplicó por el factor de dilución.

La ecuación lineal para determinar las concentraciones de carbohidratos se obtuvo a partir de la curva de calibración, para ello se realizó una solución de glucosa (1 g/L) y se realizaron las diluciones descritas en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Determinación de curva de calibración mediante técnica de diluciones.

Concentración deseada	Dilución de 1 g/L tomar	Aforar con agua destilada a:
0.1 g/L	2.5 mL	25 mL
0.2 g/L	5 mL	25 mL
0.3 g/L	7.5 mL	25 mL
0.4 g/L	10 mL	25 mL
0.5 g/L	12.5 mL	25 mL

De cada dilución se tomaron 2 mL y se colocaron en tubos de ensaye para adicionar 8 mL de antrona para realizar la misma técnica empleada en la determinación de carbohidratos, calentar a 94° C por 12 minutos y dejar enfriar por 20 minutos, y finalmente leer la absorbancia de cada tubo.

2.4.2 Caracterización microbiológica

En la Tabla 2.4 se muestran los parámetros microbiológicos junto con el método empleado.

Tabla 2.4 Determinaciones microbiológicas

Determinación microbiológica	Método	Unidad
Hongos	Conteo de colonias en petrifilm	UFC/mL
Levaduras	Conteo de colonias en petrifilm	UFC/mL
Bacterias ácido lácticas	Conteo de colonias en petrifilm	UFC/mL
Bacterias aerobias	Conteo de colonias en petrifilm	UFC/mL

- **Mohos y levaduras:** En el recuento de mohos y levaduras se realizó mediante el uso de “La Placa 3M™ Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras”, almacenadas a temperatura de refrigeración entre - 20° C a 8° C. Con ayuda de una incubadora con una temperatura de operación de entre 25° C a 28° C se incubaron las placas por un periodo de 48 ± 2 horas en base a las instrucciones descritas en el empaque.

La presencia de colonias pequeñas con bordes definidos de color rosado a verde azulado representa la presencia de levaduras, mientras que las colonias más grandes de bordes borrosos de color verde azulado demuestran la presencia de mohos.

- **Bacterias ácido lácticas:** La determinación de bacterias ácido lácticas en los GGCA se realizó mediante “La Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®”, se caracterizan por tener compuestos que eliminan el oxígeno permitiendo un ambiente anaeróbico para la formación de bacterias ácido lácticas homofermentativas y/o heterofermentativas. Su incubación se realizó en un periodo de 24 ± 3 horas entre un rango de $28 - 37^{\circ}$ C. La presencia de BAL se demuestra ante la presencia de colonias rojas con presencia de burbujas, gas atrapado, para las BAL heterofermentativas y para el caso de las BAL homofermentativas lo único que lo diferencia es la ausencia de burbujas en la petrifilm.
- **Bacterias aerobias:** La determinación de bacterias aerobias se hizo con ayuda de “La Placa™ para el Recuento de Aerobios AC” de la marca 3M. Su incubación fue a una temperatura de $28 - 37^{\circ}$ por un periodo de 24 ± 3 horas. La presencia de bacterias aerobias se ve identificada ante la presencia de colonias tintadas de rosa.

2.4.3 Degradación de celulosa

Aparte de las caracterizaciones previamente mencionadas, se realizó la identificación de grupos funcionales presentes en el residuo para evaluar el contenido de compuestos lignocelulósicos antes y después del proceso fermentativo. Para ellos, se hizo uso de espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) con un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum Two.

2.5 Evaluación de parámetros cinéticos

Para la determinación de los parámetros cinéticos de cada una de las fermentaciones se utilizaron dos modelos matemáticos: el modelo de Gompertz y el modelo logístico.

2.6 Proceso de fermentación anaerobio

2.6.1 Condiciones de operación del reactor

Para el proceso de fermentación probiótica de los GGCA se emplearon tres diferentes inóculos de *Lactobacillus rhamnosus* previamente acondicionados a agitación constante de 120 rpm por 24 horas a 37° C. Una vez acondicionado el probiótico, se realizó el proceso cinético de fermentación empleando 3 matraces y dos réplicas como se muestra en la Figura 2.6, Erlenmeyer de 250 mL, con un volumen útil de 190 mL. Posteriormente se adicionó el inóculo del *L. rhamnosus* a diferentes concentraciones (5 %, 10 % y 15 % v/v). Durante el proceso fermentativo se monitorearon las condiciones de operación de temperatura, pH y agitación, cuidando que el proceso de mantuviera a una temperatura de 37 °C, en un rango de 6.0 a 6.5 y a una agitación constante de 120 rpm respectivamente.



Figura 2.6 Reactores con 5 %, 10 % y 15 % por duplicado.

2.7 Obtención de bioestimulante probiótico

Para la obtención de los bioestimulantes se realizó la fermentación probiótica en un reactor batch que se compone de un cilindro de vidrio de marca Nanshin con un volumen de operación de 1 L, placa de agitación y bomba de recirculación de agua de calentamiento de capacidad de 1.2 L/min como se muestra en la Figura 2.7. El proceso de biotransformación se realizó bajo las condiciones de operación mencionadas por Saha *et al.*, 2022 consistiendo en un proceso fermentativo a 37 °C por un periodo de 72 horas y agitación constante de 120 rpm. Se operó al 5 %, 10 % y 15 % v/v de inóculo el cual

consistió en una mezcla de 45 mL, 40 mL y 35 mL de GGCA y 5 mL, 10 mL y 15 mL de *L. rhamnosus* respectivamente (matraces semillas). Los matraces semillas fueron añadidos al reactor que contenía 940 mL de GGCA diluidos.



Figura 2.7 Reactor batch para la obtención de bioestimulantes

2.7.2 Muestreo y almacenamiento de las muestras

Para evaluar el funcionamiento del reactor se analizó el pH y carbohidratos de la mezcla antes y después del proceso fermentativo para determinar la degradación de carbohidratos y producción de ácido láctico al paso de los días. A las 24 horas de iniciada la fermentación, los muestreos se realizaron cada 2 horas y para las 48 y 72 horas los muestreos se tomaron cada 4 horas, este procedimiento se realizó para cada una de las cinéticas ejecutadas con los diferentes porcentajes de inóculo de *L. rhamnosus*. El muestreo se realizó a través de jeringas y mangueras plásticas, almacenándolas en envases plásticos con tapa de 1 oz de capacidad para ser refrigerados a 4° C hasta su uso.

2.7.3 Obtención y preservación del fermento

Tras las cinéticas realizadas el producto obtenido, bioestimulante, se almacenó en frascos ámbar de 1 L de capacidad, representado en la Figura 2.8, y se almacenaron en

el refrigerador a una temperatura de 4° C hasta su uso posterior. A los tres fermentos obtenidos se les realizaron las mismas determinaciones fisicoquímica y microbiológicas que a la dilución inicial de GGCA antes de la fermentación probiótica.



Figura 2.8 Bioestimulantes de 5 %, 10 % y 15 %.

2.8 Obtención de biomasa

La recolección de biomasa se hizo al centrifugar 9 mL de fermento por 10 minutos a 10,000 rpm a través de una centrífuga HERMLE-Lubnet modelo Z323 y posteriormente someterlo a secado por 4 h a 95 °C.

2.9 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del fermento probiótico

Las determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas realizadas a los fermentos fueron las mismas que se le realizaron a la dilución de los GGCA descritos previamente.

2.10 Determinación de ácido láctico

Para la determinación de acidez se utilizó la técnica descrita en la NOM-420-S-1982 “Productos alimenticios para uso humano-Determinación de acidez en leche fluida”. La técnica descrita en la norma se basa en la titulación alcalimétrica con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, utilizando fenolftaleína como indicador (Figura 2.9).



Figura 2.9 Equipo empleado para la determinación de ácido láctico

La Ecuación 2.5 obtenida de la norma previamente mencionada demuestra el cálculo realizado para determinar la cantidad de ácido láctico contenido en las muestras.

$$\text{Ácidez} = \frac{V \cdot N \cdot 90}{M} \quad (2.5)$$

Donde:

V: Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastados en la titulación

N: Normalidad de la solución de titulación 0.1

M: Volumen de la muestra en cm^3

2.11 Conteo celular

La técnica empleada para el conteo celular fue mediante el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Esta técnica consiste en la siembra de las muestras

tomadas de la cinética para posteriormente realizar diluciones en serie base 10 y propagarlas en un medio de cultivo sólido (Agar MRS) y realizar el conteo de colonias formadas después de la incubación.

2.11.1 Preparación de diluciones

Se realizó una serie de 8 diluciones de cada uno de los muestreos, realizados cada 4 horas durante 3 días para cada uno de los fermentos (5 %, 10 % y 15 %), ya que la octava dilución permitió realizar adecuadamente el conteo de las colonias formadas por placa.

2.11.2 Siembra

Se tomó alrededor de 1 mL de la dilución y se esparce de manera uniforme sobre la placa de agar MRS.

2.11.3 Incubación

La incubación se hizo mediante la técnica de placa invertida a una temperatura de 37°C por 24 horas.

2.11.4 Conteo y cálculo de UFC

Tras la incubación se realizó el conteo de las colonias formadas en las placas y para el cálculo de UFC se multiplican las colonias contabilizadas por el factor de dilución.

2.12 Diseño experimental para el proceso de fermentación

Para el proceso fermentativo se utilizó el diseño experimental Unifactorial (ANOVA), empleando tres concentraciones diferentes de *Lactobacillus rhamnosus*: 5 %, 10 % y 15 % v/v, tomando como variables de respuesta la degradación de carbohidratos, pH y crecimiento celular.

2.13 Obtención de especies de interés

2.13.1 Obtención de especie forestal: *Quercus*

La especie forestal empleada para la experimentación fue el *Quercus laurina* obtenido del municipio de Marino Escobedo, Veracruz, México. El área de donde se extrajeron los especímenes pertenece a un terreno municipal ubicado a un costado de la Carretera Loma Grande a 18°55'11.7" N y 97°08'02.4" O (Figura 2.10).

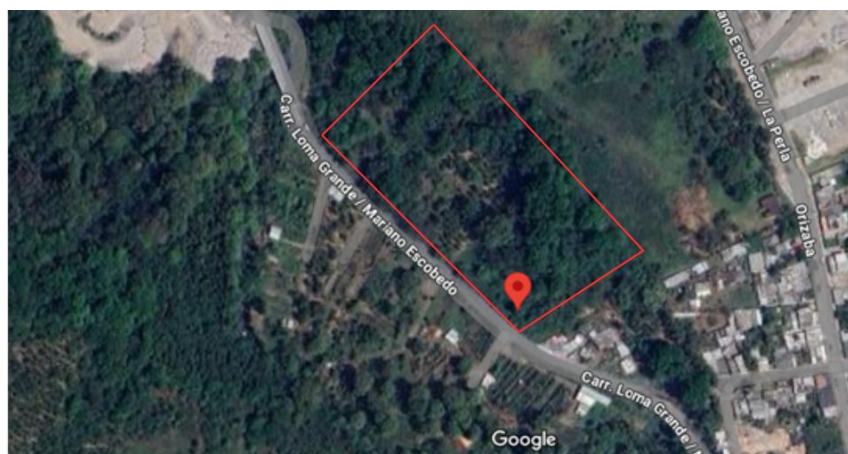


Figura 2.10 Lugar de extracción de la especie forestal *Q. laurina*

Alrededor de 40 plántulas de 10 cm de altura aproximadamente se extrajeron del terreno junto con 5 costales de tierra de la zona. Una parte del suelo muestreado se llevó a analizar a FYPA, laboratorio de diagnóstico para suelos, plantas, aguas, compostas, sustratos y soluciones, ubicado en la carretera federal Fortín-Córdoba en el municipio de Fortín, Veracruz, México. La finalidad del análisis del suelo es determinar las características del suelo antes y después de aplicar los bioestimulantes para que una vez finalizado el experimento volver a analizar el suelo y determinar los cambios que la composición fisicoquímica del suelo sufrió.

2.13.2 Obtención de especie comercial: Cebada

La semilla de cebada fue obtenida a partir de la cervecera artesanal de la región.

2.14 Prueba de germinación y dosis recomendada en especie comercial

Las pruebas de germinación y dosis recomendada aplicadas a la cebada se realizaron en base a la técnica descrita en el documento “Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4200 Seed Germination/ Root Elongation Toxicity Test Public Draft” emitido por la EPA. Para ello, a partir de las biomásas probióticas obtenidas se realizaron cuatro diluciones a diferentes concentraciones de fermento, como se muestra en la Tabla 2.5, diluidos con agua.

Tabla 2.5 Diluciones empleadas en prueba de germinación y dosis recomendada.

Dilución	Bioestimulante (%)	Agua (%)
1	10	90
2	50	50
3	70	30
4	100	0

Para la prueba de dosis adecuada se sometieron 15 semillas de cebada a las concentraciones descritas anteriormente y a un control. La experimentación finalizó cuando al menos 65 % de las semillas del control, las que fueron regadas únicamente con agua, germinaron y desarrollaron raíces de al menos 20 mm de largo.

Una vez realizada la prueba de dosis se determina la dilución en la que hubo una mayor tasa de germinación para que se trabajen los tres inóculos (5 %, 10 % y 15 %) a dicha dilución.

2.15 Diseño experimental para las especies vegetales

El diseño experimental para ambas especies vegetales consta de un diseño unifactorial al azar. Para el experimento de los encinos se llevó por un periodo de 120 días empleando 10 plántulas y una réplica de cada tratamiento mientras que para la cebada se emplearon 30 semillas por tratamiento y una réplica por el lapso de un mes.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinaciones fisicoquímicas de los GGCA

En la Tabla 3.1 se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica realizada a los GGCA pretratados y se compararon con los resultados presentados en el trabajo de investigación de Estrada-García (2024) al mismo residuo.

Tabla 3.1 Resultados fisicoquímicos de los GGCA base seca.

Parámetros	GGCA	Estrada-García., 2024
ST (%)	3.04 ± 1.66	4.06 ± 0.07
STV (%)	2.97 ± 0.04	3.91 ± 0.01
Carbohidratos (g L^{-1})	14.89 ± 0.34	14.76 ± 1.24
Proteínas (%)	19.60 ± 1.44	11.29 ± 0.23
Nitrógeno total (%)	3.14 ± 0.23	1.80 ± 0.05
pH	5.0 ± 0.02	4.9 ± 0.01
Humedad	9.56 ± 0.33	-

El contenido de proteínas presentado por Estrada-García (2024) con un valor de 11.29 %, es significativamente mucho menor a los obtenidos en la experimentación con 19.60 %, esto se debe a múltiples factores que influyen en el contenido de proteínas presentes en los GGCA. Estos factores son los pretratamientos, tratamientos químicos y físicos a los que se ve sometido el bagazo de cerveza afectando la calidad del contenido proteico como mencionan Naibaho *et al.* (2022). Naibaho y Korzenjowska (2021), mencionan que la variación genética de los cultivos utilizados, la especificidad de la producción de cerveza y los tratamientos y pretratamientos empleados durante la producción de cerveza afectan directamente en las propiedades de los GGC.

3.2 Determinaciones microbiológicas de los GGCA

Los resultados de las pruebas microbiológicas de la dilución de los GGCA se muestran en la Tabla 3.2 contando con $3.93 \log^{10}$ UFC/mL de bacterias aerobias debido a la hidrólisis a la que fueron sometidos los GGCA posterior al pretratamiento. Este resultado se comparó con otros autores, el resultado obtenido está por debajo del rango reportado por Wang *et al.* (2020) y Dai *et al.* (2022). Las determinaciones de bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras no se reportaron debido a la ausencia de estos durante la caracterización microbiológica.

Tabla 3.2 Resultados microbiológicos de los GGCA

Parámetros	GGCA	Wang <i>et al.</i> , 2020	Dai <i>et al.</i> , 2022
Bacterias aerobias	3.93	6.61	4.62

3.3 Cinéticas de crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus*

La Figura 3.1 muestra las cinéticas de crecimiento y comportamiento del pH del *L. rhamnosus* correspondiente al 5 % de inóculo. Se aprecia que en la fase inicial que va de las 0 a 12 horas, la concentración de carbohidratos es muy alta y el crecimiento microbiano es limitado ya que se encuentran en la etapa de adaptación. Conforme el paso del tiempo, se aprecia un descenso de pH lento posterior a las 12 horas, mientras que la degradación de los carbohidratos es progresiva y el crecimiento celular es paulatino, sin embargo, a pesar de que el crecimiento celular es muy bajo, con un valor aproximado de $8.5 \log^{10}$ UFC/mL, *L. rhamnosus* tiene la capacidad de adaptarse y crecer gracias a los azúcares disponibles en los GGCA.

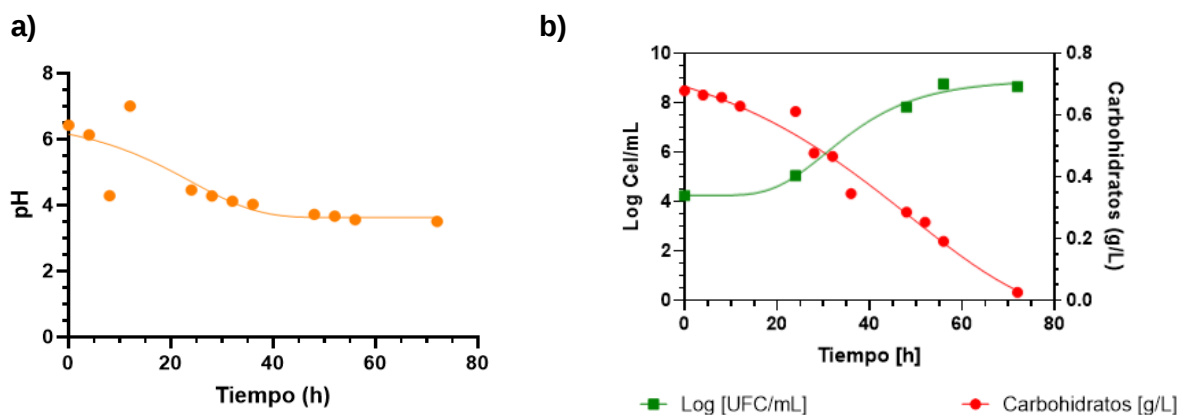


Figura 3.1 a) Comportamiento del pH de fermentación con *L. rhamnosus* al 5%. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de *L. rhamnosus* al 5%.

Se observó que el consumo de carbohidratos aumentó notablemente con el paso del tiempo, a pesar de que el crecimiento celular es más lento lo que podría deberse a una fase lag prolongada ($\lambda = 19.29$ h) demostrando que la adaptación del *L. rhamnosus* a los GGCA fue lenta y que la velocidad de consumo igual fue lenta con un valor de $K_s = 0.0886$. Sin embargo, el marcado decremento de los carbohidratos apunta que la producción de ácido láctico se llevó a cabo, aunque lentamente. Este comportamiento coincide con lo reportado por Puligundla y Mok (2021), quienes señalan que, al trabajar con inóculos bajos, la fermentación ocurre, aunque la eficiencia del proceso disminuye en términos de tiempo. En base a lo antes mencionado, el inóculo del 5 % mostró una adaptación lenta, reflejado en el crecimiento celular lento, una acidificación y degradación de sustrato parcial. Múltiples estudios han demostrado que al trabajar con inoculaciones bajas la producción temprana de ácido láctico se ve limitada y la velocidad de aprovechamiento de sustrato disminuye.

En la Figura 3.2 se muestran las cinéticas del inóculo del 10 %. Se aprecia que antes de que el proceso llegara a las 20 horas hubo un descenso de pH mucho más rápido que en el del 5 % estabilizándose cerca de un pH de 3.4 - 3.5. Dentro de las primeras 24 horas del proceso fermentativo tuvo una marcada degradación de carbohidratos lo que está estrechamente relacionado con el rápido ascenso de la densidad celular alcanzando un valor aproximado de $8.65 \log^{10}$ UFC/mL siendo el más alto de los tres inóculos.

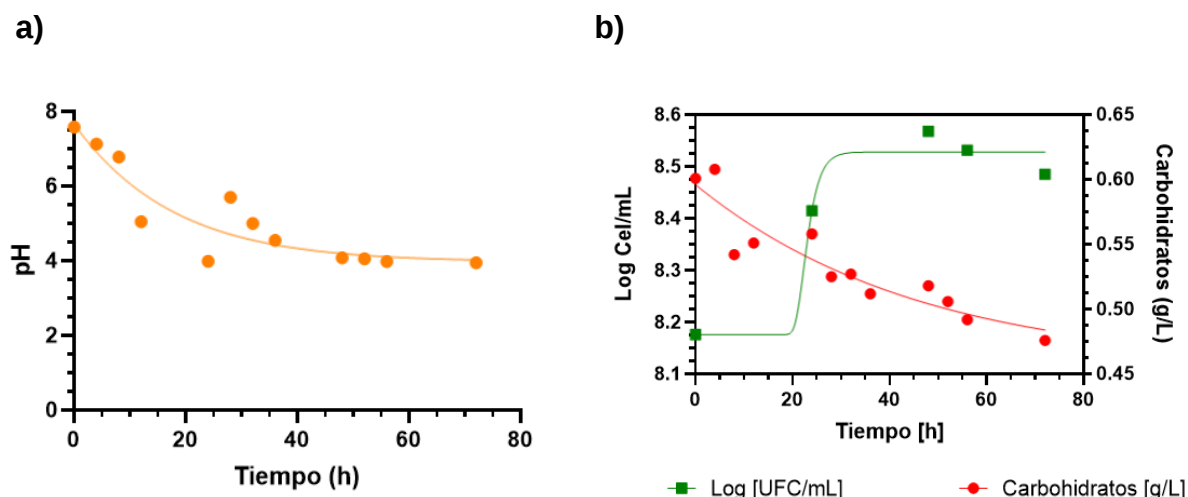


Figura 3.2 a) Comportamiento del pH de fermentación con *L. rhamnosus* al 10%. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de *L. rhamnosus* al 10%.

Trabajos de investigación han señalado que el tamaño del inóculo juega un papel fundamental para la acidificación, degradación de azúcares y biomasa en fermentaciones probióticas demostrado con inoculaciones medias (Zhang *et al*, 2022; Yuan *et al*, 2023; Han *et al*, 2024; Sun *et al*, 2024). Es por ello, que la fermentación con el 10 % presentó el mejor desempeño de entre los tres inóculos ya que obtuvo la mayor degradación de carbohidratos con un $K_s = 0.5667 \text{ h}^{-1}$, una $\mu_{max} = 0.2084 \text{ h}^{-1}$ siendo la más elevada de las tres fermentaciones demostrando una eficiencia metabólica una vez pasada la etapa de adaptación y un crecimiento celular mayor a pesar que la fase de adaptación fue mayor ($\lambda = 20.64 \text{ h}$) que la del 5 % y la generación de ácido láctico fue la menor (40.50 g/L) de las tres experimentaciones.

Para la fermentación del 15 % de inóculo, hubo una notoria acidificación en menos de 20 horas de iniciado el experimento (véase Figura 3.3) alcanzando valores de pH por debajo de 4. A pesar de haber tenido el tiempo de adaptación más bajo, $\lambda = 17.32$ h, y una acidificación más pronta su valor de $\mu_{\max}$ resultó ser el más bajo con un valor de 0.0241 h^{-1} . Esto se justifica con trabajos de investigación que mencionan que, al emplear concentraciones celulares elevadas aparte de provocar una temprana acumulación de ácido láctico, como menciona Brownlie *et al.*, (2022) la producción de ácidos por parte de los lactobacilos llega a actuar como inhibidores sobre poblaciones microbianas inhibiendo su crecimiento, también genera una competencia entre los microorganismos por el limitado sustrato.

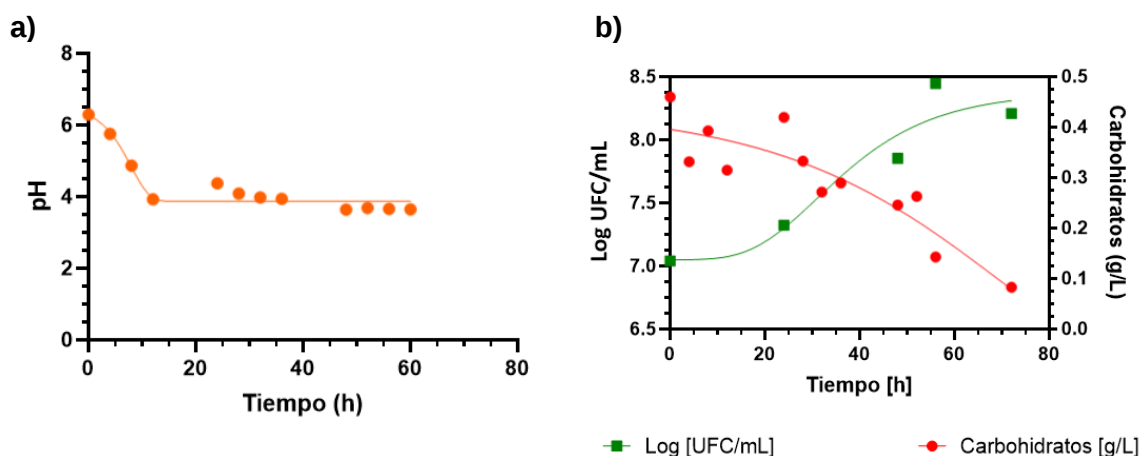


Figura 3.3 a) Comportamiento del pH de la fermentación con *L. rhamnosus* al 15 %. b) Cinética de crecimiento y degradación de carbohidratos de *L. rhamnosus* al 15%.

A pesar de que su degradación de carbohidratos fue alta, el crecimiento celular al transcurrir las 72 horas fue el menor que el del 10 %, $8.27 \log^{10}$ UFC/mL, demostrando que el inóculo del 15 % genera condiciones de saturación celular.

3.3.1 Parámetros cinéticos

La Tabla 3.3 presenta los parámetros cinéticos determinados durante los procesos de biotransformación de los tres inóculos empleando el modelo matemático de Gompertz.

Se seleccionó el modelo de Gompertz por encima del logístico ya que demostró un mejor ajuste a los datos experimentales como se aprecia en los valores de R^2 para los tres experimentos.

Tabla 3.3 Parámetros cinéticos del proceso de biotransformación

Inóculo (%)	K_s (h^{-1})	μ_{max} (h^{-1})	$\lambda(h)$	a (Log UFC/mL)	R^2
5	0.0886	0.0326	19.29	8.5	0.99
10	0.5667	0.2084	20.64	8.65	0.97
15	0.0656	0.0241	17.32	8.27	0.92

3.4 Identificación de grupos funcionales

A los fermentos probióticos obtenidos se les analizó los grupos funcionales a través de espectros FT-IR realizados a las biomasas (base seca) obtenidas al inicio del proceso fermentativo (0 horas) y al final (72 horas). Los principales grupos funcionales identificados de interés fueron celulosa ubicado en un rango de $3,300-3,500\text{ cm}^{-1}$ (O-H), hemicelulosa en $1,740-1,720\text{ cm}^{-1}$ (C=O) y lignina en $1,605-1,595$ y $1,515-1,505\text{ cm}^{-1}$ (C=C). Rangos extraídos del trabajo de investigación de Zhuang *et al.*, (2020). En la Figura 3.4 se muestran los espectros FT-IR correspondientes a los tres inóculos.

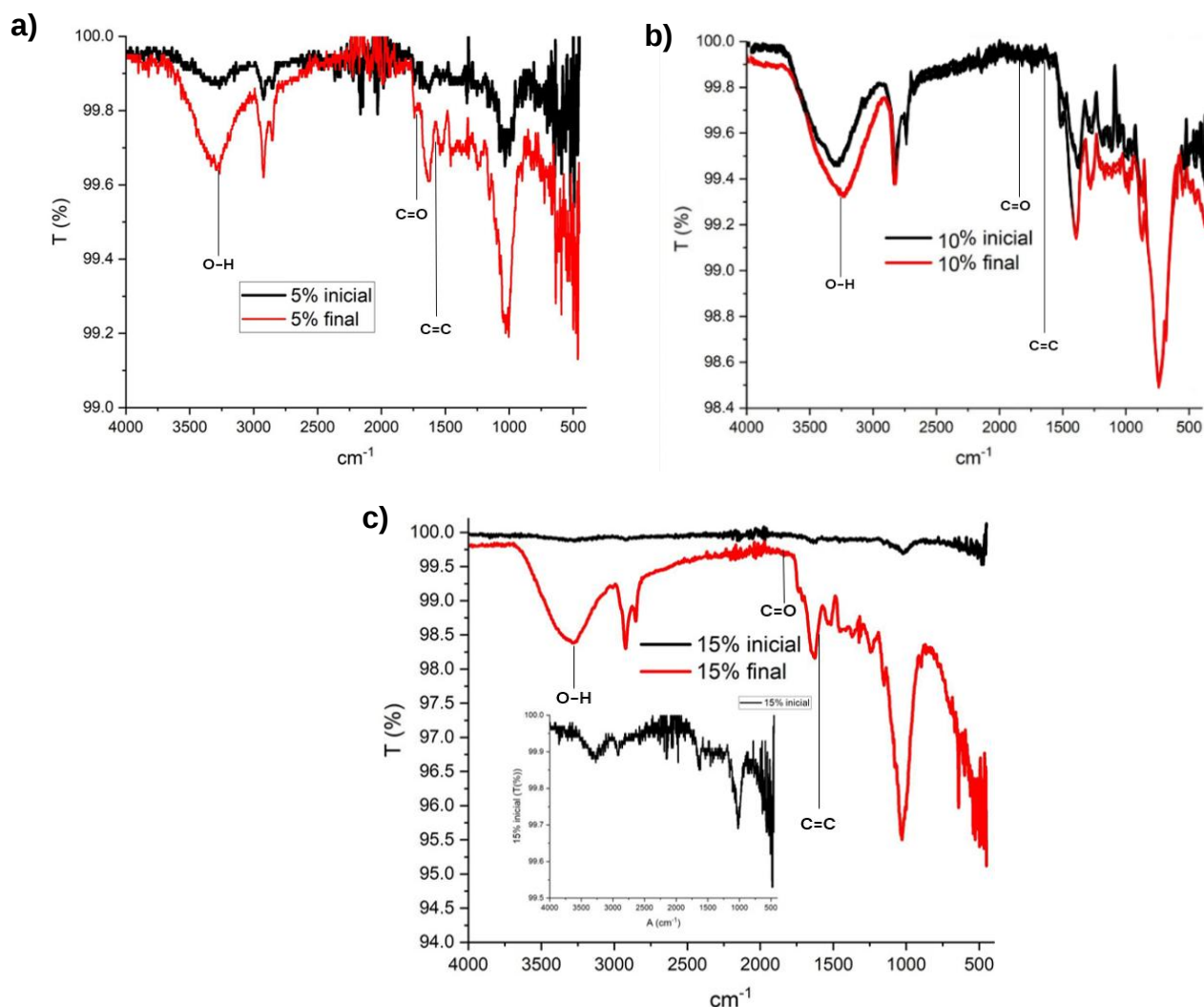


Figura 3.4 Espectro FT-IR biomazas inicial y final: a) 5, b) 10 y c) 15 % de inóculo.

Se aprecia que en los tres inóculos hay un aumento en la señal FT-IR correspondiente a celulosa tras 72 horas del proceso fermentativo. Sin embargo, esto no es atribuido a que se haya producido nueva celulosa, sino que el incremento en la señal de celulosa es ocasionado por factores como un enriquecimiento de celulosa a partir de la degradación de compuestos solubles y lignina (Tryjarski *et al.*, 2022). En el inóculo del 10 % la hemicelulosa de la biomasa final es nula a comparación de la hemicelulosa inicial lo que puede ser provocado por factores como el incremento en el pico de celulosa del espectro.

Otro factor que influye en el incremento en los picos de los espectros es el aumento en el índice de cristalinidad. Esto se debe a que, durante la fermentación, componentes amorfos como la hemicelulosa, lignina y compuestos solubles son eliminados permitiendo que la absorbancia aumente, lo que refleja un incremento en la señal de la celulosa del FT-IR como mencionan Chang *et al.* (2021) y Baraka *et al.* (2024) provocado por la desnaturalización de estructuras más complejas generando un mayor índice de cristalinidad.

3.5 Determinación fisicoquímica de fermentos probióticos

Para fines de este trabajo se requirió de un fermento probiótico con alto contenido en nitrógeno ya que al ser un macronutriente primario beneficia a las plantas para su desarrollo morfológico (raíces, tallos y hojas) al igual que en la formación de proteínas, azúcares, grasas y vitaminas (Ibarra, 2023) y en procesos químicos como la fotosíntesis y la síntesis de clorofila. La Tabla 3.4 presenta las determinaciones fisicoquímicas realizadas a las tres biomásas obtenidos tras la fermentación probiótica con *Lactobacillus rhamnosus*.

Tabla 3.4 Caracterización fisicoquímica de los fermentos probióticos

Parámetros	Bioestimulante (inóculo 5 %)	Bioestimulante (inóculo 10 %)	Bioestimulante (inóculo 15 %)
ST (%)	2.11 ± 0.65	1.73 ± 0.13	2.45 ± 0.07
STV (%)	1.80 ± 0.11	1.43 ± 0.23	2.05 ± 0.08
Nitrógeno total (g.L ⁻¹)	0.71 ± 0.02	0.39 ± 0.07	1.38 ± 0.01
Carbohidratos (g.L ⁻¹)	0.09 ± 0.48	0.47 ± 0.51	0.083 ± 0.49
Proteínas (g.L ⁻¹)	4.46 ± 0.12	2.42 ± 0.09	8.65 ± 0.17
pH	3.86 ± 0.38	4.08 ± 0.10	3.99 ± 0.09
Fósforo (g.L ⁻¹)	0.041 ± 0.15	0.066 ± 0.02	0.045 ± 0.42

3.6 Determinación microbiológica de los fermentos probióticos

La Tabla 3.5 sintetiza los resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas a las que fue sometida cada fermentación probiótica. Los fermentos alcanzaron valores entre 9.85 y 10.30 $\log^{10}$ UFC/g de BAL que llegan a superar lo reportado por Verni *et al.*, (2020), quienes obtuvieron de 9.36 a 9.67 $\log^{10}$ UFC/g utilizando como microorganismo fermentante *L. plantarum*, y a Cacaé *et al.*, (2022) reportando valores aproximados a 8.32 $\log^{10}$ UFC/g. Para el caso de las levaduras, específicamente las de los tratamientos del 5 y 10 % difieren con lo reportado por Verni *et al.* ya que los resultados que obtuvieron fueron mucho menores a la de los inóculos mencionados previamente (9.29 y 9.21 $\log^{10}$ UFC/g respectivamente) con valores cercanos a 4.76 $\log^{10}$ UFC/g. Esto sugiere a que se llevó a cabo una fermentación más eficiente a la de los otros trabajos beneficiada por la disposición de carbohidratos al igual que por la concentración de lactobacilo demostrando que las condiciones empleadas durante la fermentación favorecieron a un mayor desarrollo de comunidades microbiológicas.

Tabla 3.5 Caracterización microbiológica de los fermentos probióticos

Inóculo (%)	Bacterias ácido lácticas	Bacterias aerobias	Levaduras
5	9.85 $\pm$ 0.07	-	9.29 $\pm$ 0.02
10	10.15 $\pm$ 0.05	8.33 $\pm$ 0.16	9.21 $\pm$ 0.08
15	10.30 $\pm$ 0.05	-	7.62 $\pm$ 0.28

Se aprecia que en los tres inóculos hay una mayor concentración de BAL, concentrando los mayores valores en los inóculos del 10 y 15 % con 10.15 y 10.30 $\log^{10}$ UFC/mL respectivamente, lo cual es benéfico ya que estudios como el de Murindangabo *et al.*, (2023) mencionan que las BAL han adquirido relevancia en productos como biofertilizantes y bioestimulantes gracias a las múltiples ventajas que brindan a las plantas y a los suelos ya que mejoran la fertilidad del suelo, solubilizan nutrientes, producen metabolitos beneficiosos y controlan microorganismos fitopatógenos, hongos y bacterias que afectan el desarrollo de las plantas (Caballero *et al.*, 2020). La presencia de levaduras en los fermentos de 5 y 10 % (9.29 y 9.21 $\log^{10}$ UFC/mL respectivamente) coinciden con

lo que reportan múltiples trabajos de investigación como las levaduras promotoras del crecimiento vegetal mejor conocidas como PGPY por sus siglas en inglés, que al igual que las BAL brindan beneficios tanto en los suelos, mejorando la fertilidad y solubilidad de nutrientes como fosfatos, como en las plantas permitiendo que tengan una mayor tolerancia a estrés abiótico y a fitopatógenos como destacan Nimsi *et al.*, (2023).

El inóculo del 10 % demuestra ser la concentración adecuada para la coexistencia de diversos microorganismos a diferencia de los otros dos inóculos. La presencia de bacterias aerobias ha sido documentada como benéficas principalmente en la fijación de nitrógeno potencializando el desarrollo de las plantas (Singh y Shyu, 2024).

3.7 Determinación de ácido láctico

Lactobacillus rhamnosus como varios estudios resaltan ha demostrado ser un gran productor de ácido láctico. En la Tabla 3.6 se muestran los resultados de la determinación de ácido láctico realizada a los tres fermentos. El fermento con el inóculo del 5 % presentó la mayor generación de ácido láctico ya que como menciona Lech (2021) la eficiencia celular es fundamental en cuanto a la producción de AL, por lo tanto, la concentración de ácido láctico en los fermentos de 10 % y 15 % debido a una menor concentración celular presenta menor generación de este.

Tabla 3.6 Generación de ácido láctico de los fermentos probióticos

Inóculo (%)	Generación de ácido láctico (g /L)
5	54
10	40.50
15	46.80

Granget *et al.*, (2024) mencionan que, en múltiples estudios, *L. rhamnosus* ha obtenido producciones máximas de AL como en el caso de Pejin *et al.*, (2015a) que obtuvieron 16.09 ± 0.07 g/L empleando GCC hidrolizados con ácido fórmico y suplementados con 0.05 % de extracto de levadura. Radosavljević *et al.*, (2021) a través de la encapsulación de la mezcla de GGC hidrolizados enzimáticamente presentó una producción de 48.5 g/L

de AL. La alta producción de ácido láctico obtenida en este estudio, hasta 54 g/L con el inóculo del 5 % de lactobacilo, se puede deber a la disposición de carbohidratos solubles y oligosacáridos presentes en los GGCA. Múltiples trabajos han destacado que a través de únicamente extracciones acuosas los GGC son un buen sustrato para realizar fermentaciones ya que gran parte de los azúcares simples y oligosacáridos quedan parcialmente liberados durante la maceración y lavado del bagazo como resaltan Bernal-Ruiz et al. (2021); Nunes et al. (2024). Otro factor que influye en la generación de ácido láctico es la capacidad metabólica del *L. rhamnosus* ya que como se explica en el trabajo de Masiá et al., (2021) este aprovecha los carbohidratos de cadena corta y metabolitos derivados de la hidrólisis térmica permitiendo altos rendimientos de ácido láctico a partir de matrices vegetales mínimamente procesadas.

3.8 Cuantificación de biomasa

El rendimiento de la biomasa se observa en la Tabla 3.7, en el cual se registraron las biomazas iniciales y finales de cada una de las fermentaciones probióticas.

Tabla 3.7 Generación de biomasa de los fermentos probióticos

Inóculo (%)	Biomasa inicial (g/L)	Biomasa final (g/L)
5	17.28	21.68
10	13.88	15.31
15	22.19	36.94

La mayor cantidad de biomasa presente en los fermentos fue en el del 15 % a diferencia de los otros dos inóculos de operación, esto se puede deber a que al haber una mayor concentración de BAL no degradaron en su totalidad los GGCA utilizados como sustrato a diferencia del fermento del 15 % que al contar con una mayor presencia de microorganismos la degradación del residuo lignocelulósico fue mucho mayor.

En la Tabla 3.6 se aprecian los rendimientos finales de las biomazas probióticas de cada tratamiento. Existen diferencias notorias en cuanto a los tres inóculos utilizados, ya que

el inóculo del 15 % obtuvo el mayor rendimiento de biomasa final (36.94 g/L incrementando 14.75 g/L), seguido del inóculo del 5% (21.68 g/L incrementando 4.40 g/L) y por último el inóculo del 10 % (15.31 g/L incrementando 1.43 g/L). Este comportamiento sugiere que al contar con una mayor concentración inicial de células estas llevan a cabo una mejor degradación de los GGCA generando una mayor acumulación de biomasa total. Ren *et al.*, (2022) respaldan lo antes mencionado ya que destacan que, al utilizar sustratos lignocelulósicos en producción microbiana al haber mayor carga celular o estrategias, como los pretratamientos, permiten que la recuperación de azúcares y la biomasa aumenten.

Comparando los rendimientos de cada fermento (biomasa neta entre carbohidratos consumidos) obtenemos que para el inóculo del 5 % hay un rendimiento de 0.29 g biomasa/g carbohidrato, 10 % con 0.099 g/g y el 15 % con 0.99 g/g. Estos rendimientos demuestran que el inóculo del 15 % tuvo una eficiencia mayor a las otras dos concentraciones y el de menor eficiencia fue el del 10 %. Otros autores han reportado biomاسas finales de 15 a 20 g/L tras realizar fermentaciones con cepas probióticas en condiciones optimizadas, por lo que los resultados de biomasa total de los tres inóculos son superiores a lo reportado en la literatura.

La Figura 3.5 concentra las biomاسas iniciales y finales de cada tratamiento, se observa que en el inóculo del 15 % hubo una generación de biomasa mayor a comparación de los otros dos inóculos, esto está estrechamente relacionado con el contenido de nitrógeno y proteínas ya que este tratamiento presentó un mayor incremento en el contenido de nitrógeno total y proteína, para el caso del nitrógeno paso de 0.28 a 1.38 g/L; obteniendo el mayor de proteínas tras finalizar el proceso fermentativo de 8.68 g/L (véase Figura 3.6).

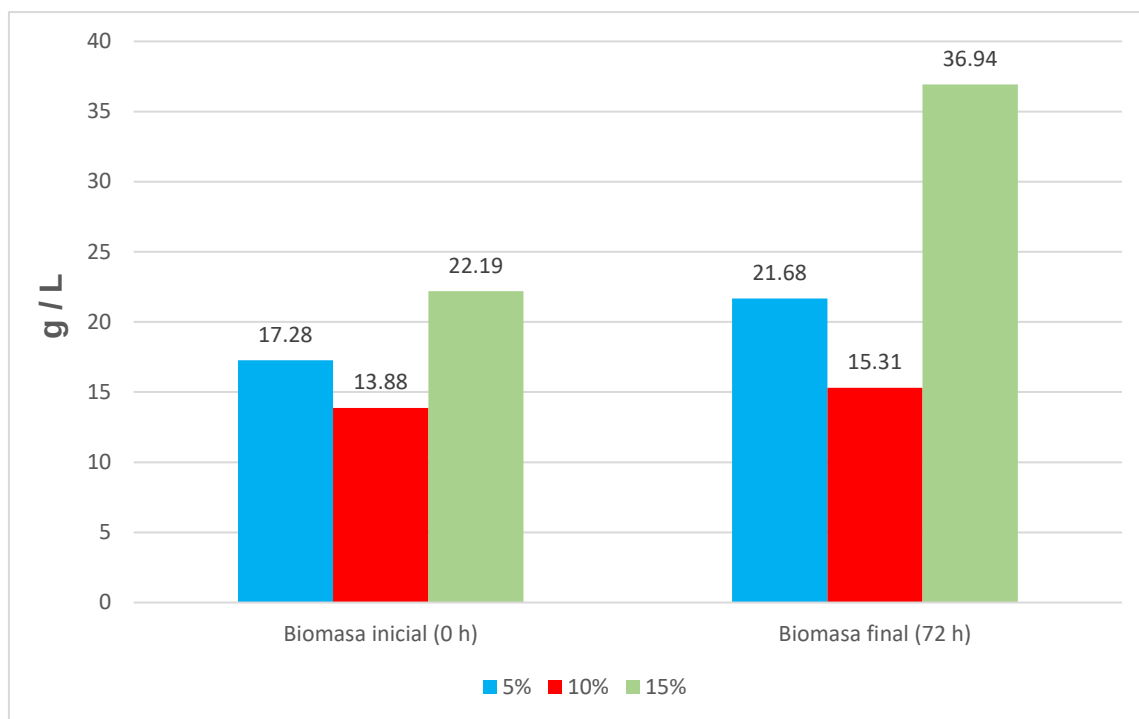


Figura 3.5 Comparativa de biomasa inicial y final por tratamiento.

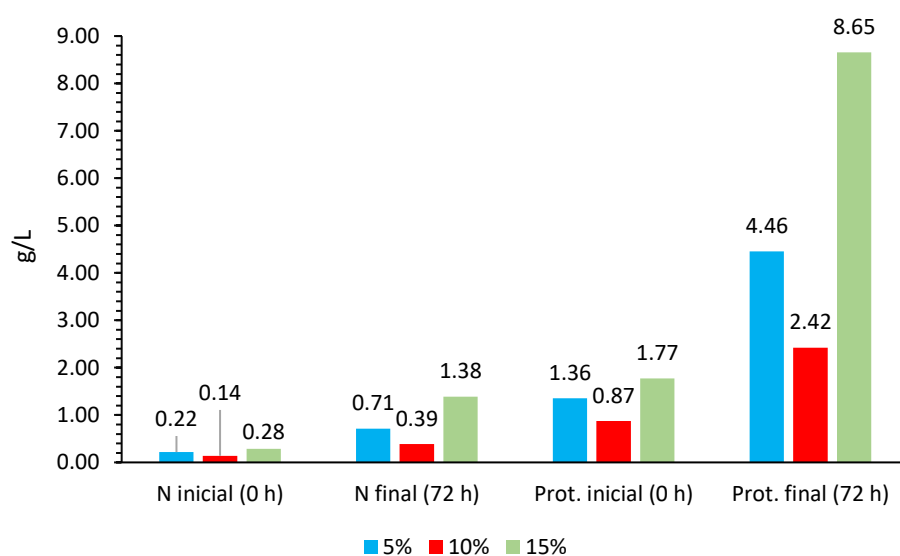


Figura 3.6 Nitrógeno y proteínas total de biomasa final e inicial.

3.9 Prueba de dosis adecuada para la cebada

Para determinar la concentración ideal de fermento probiótico para montar el experimento de cebada (*Hordeum vulgare*) se realizó una prueba de dosis adecuada. Para ello, se

empleó la metodología de “Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4200 Seed Germination/ Root Elongation Toxicity Test” emitida por la EPA donde propone el uso de múltiples diluciones para evaluar su efecto sobre el desarrollo de las semillas. La Tabla 3.8 muestra las diluciones, compuestas por una fracción de fermento y otra de agua, ocupadas.

Tabla 3.8 Diluciones aplicadas en granos de cebada

Dilución	Concentración de fermento probiótico (%)
1	10
2	50
3	70
4	100

Por cada dilución, considerando un testigo que consistió en únicamente agua, se montaron 15 semillas, el riego de las semillas se realizó semanalmente. En la Tabla 3.9 se muestran las semillas germinadas con las diferentes diluciones en un periodo de 15 días, en base al tiempo de germinación de la especie *Hordeum vulgare*.

Se aprecia que la dilución tres presentó mejores resultados de semillas germinadas ya que comparándolo contra el testigo el inóculo del 5 y 15 % tuvo valores similares y/o mayores que este. Sin embargo, el fermento del 10 % fue el que menor tasa de germinación presentó de los tres fermentos en esta dilución.

Otros factores que influyeron en la elección de la dilución óptima fueron el porcentaje de germinación y la velocidad de crecimiento diaria de las semillas. Las Tablas 3.10 y 3.11 muestran los resultados de los factores mencionados con anterioridad respectivamente.

Tabla 3.9 Germinación de la cebada con diferentes tratamientos

Tiempo (Día)	Dilución	Bioestimulante 5 %	Bioestimulante 10 %	Bioestimulante 15 %	Testigo
Día 0	1	0/15	0/15	0/15	0/15
	2	0/15	0/15	0/15	
	3	0/15	0/15	0/15	
	4	0/15	0/15	0/15	
Día 7	1	5/15	9/15	7/15	7/15
	2	5/15	7/15	12/15	
	3	12/15	6/15	7/15	
	4	5/15	7/15	9/15	
Día 15	1	5/15	10/15	8/15	8/15
	2	6/15	7/15	12/15	
	3	12/15	6/15	8/15	
	4	5/15	9/15	10/15	

Tabla 3.10 Porcentaje de germinación

Inóculo (%)	Control	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4
5	53.3	33.3	40	80	33.3
10		66.7	46.7	40	60
15		53.3	80	53.3	67

Tabla 3.11 Velocidad de crecimiento por día (mm)

Inóculo (%)	Control	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4
5	8.93	3.21	4.38	3.67	2.59
10		2.93	3.37	2.78	2.51
15		4.07	5.39	3.70	2.89

En cuanto a la velocidad de crecimiento diario se aprecia que las cuatro diluciones no lograron una velocidad mayor o igual que la del control (8.93 mm/día), sin embargo, las diluciones 3 y 4 presentan mayor homogeneidad entre las velocidades de cada inóculo a diferencia de las diluciones 1 y 2 que a pesar de brindar mayores velocidades tienen una mayor dispersión entre cada inóculo. Comparando la dilución tres de la cuatro, se puede apreciar que la dilución cuatro tiene una mayor homogeneidad, pese a esto, la dilución tres fue seleccionada para la experimentación porque está a parte de presentar un nivel adecuado de homogeneidad también fue la que mostró el porcentaje promedio de germinación más alto

3.10 Análisis de suelo forestal

En las Tablas 3.12 y 3.13 se muestra el análisis físico realizado al suelo empleado para la especie forestal. El análisis se realizó en el laboratorio de análisis de suelos FYPA ubicado en la ciudad de Orizaba, Veracruz.

Tabla 3.12 Propiedades físicas del suelo

Textura	
Arena (%)	73.48
Limo (%)	21.64
Arcilla (%)	4.88
Clase textural	Franco arenoso
Reacción del suelo	
pH	4.94
Conductividad eléctrica (Sdm ⁻¹)	0.051
Humedad (%)	32.91
Capacidad de retención de agua (%)	43.32

Tabla 3.13 Diagnóstico de suelos

Parámetro	Resultado	Unidad	Categoría de evaluación
M. orgánica	12.84	%	ALTO
Nitrógeno Total	0.135	%	MEDIO
P asimilable	3.24	mg/kg	MUY BAJO
Ca ++	1039.60	mg/kg	BAJO
Mg ++ (mg/kg)	151.52	mg/kg	MOD. BAJO
Na + (mg/kg)	13.57	mg/kg	MUY BAJO
K + (mg/kg)	99.06	mg/kg	BAJO
CIC (cmol.kg-1)	10.24	cmol.kg ⁻¹	BAJO
Fe	16.89	mg/kg	MOD. ALTO
Cu	0.86	mg/kg	MEDIO
Zn	5.80	mg/kg	ALTO
Mn	14.23	mg/kg	MOD. ALTO
B	0.20	mg/kg	MUY BAJO

En base a los datos presentados en las tablas anteriores, el suelo analizado es clasificado como un suelo fuertemente ácido ya que el pH es menor a 5 en base a la NOM-021-RECNAT-2000, estos suelos se caracterizan por contar con una baja disponibilidad de calcio, magnesio, potasio, sodio y molibdeno, la acidez del suelo es generada por el aumento en los iones de hidrógeno y aluminio limitando el crecimiento de las plantas debido a su toxicidad.

3.11 Germinación de cebada empleando fermentos probióticos

Tras haber seleccionado la dilución de fermento probiótico que mostró mejores resultados en el desarrollo de la semilla de cebada, dilución 3 del fermento del 10 y 15 %, se montó la experimentación para evaluar el efecto que tienen los fermentos probióticos en la etapa de germinación de la semilla. Para ello, se emplearon 4 tratamientos, conformados por los fermentos probióticos con diferentes concentraciones de *L. rhamnosus* y un bioestimulante comercial de la marca “BIOZYME®TF”, y un testigo (agua). El periodo que duró la experimentación fue de 30 días a condiciones de invernadero donde las semillas

se expusieron a una incidencia solar indirecta. Se empleó un total de 300 semillas utilizando 60 semillas por tratamiento (Figura 3.7).

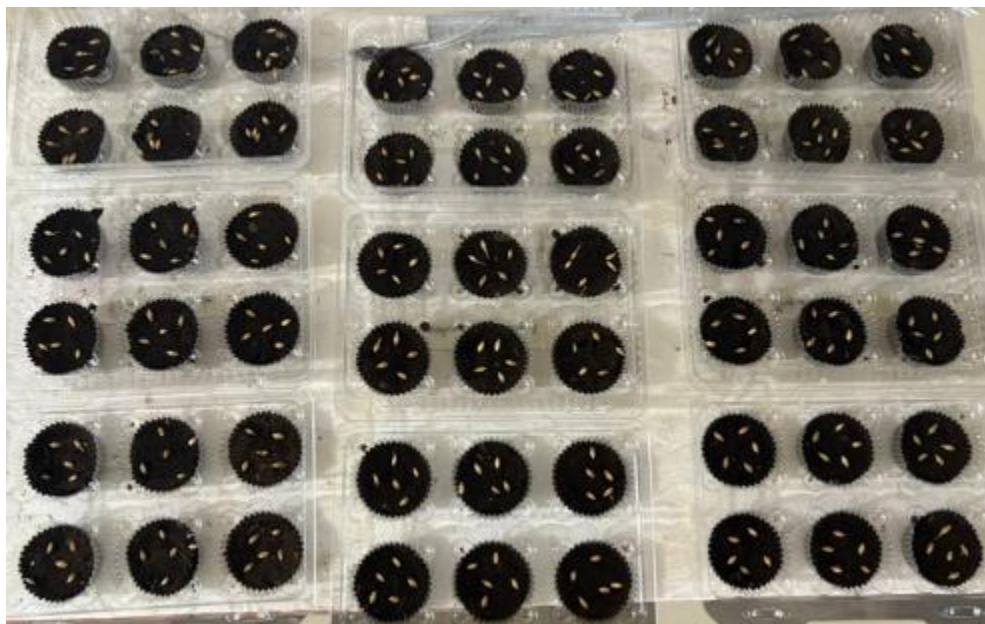


Figura 3.7 Experimento de germinación de cebada.

Los riegos con los tratamientos se efectuaron semanalmente o en el caso de que la tierra estuviera seca. Los parámetros evaluados para esta parte experimental fueron el crecimiento del tallo y raíz, el número total de semillas germinadas y el rendimiento de biomasa de la planta (véase la Figura 3.8).

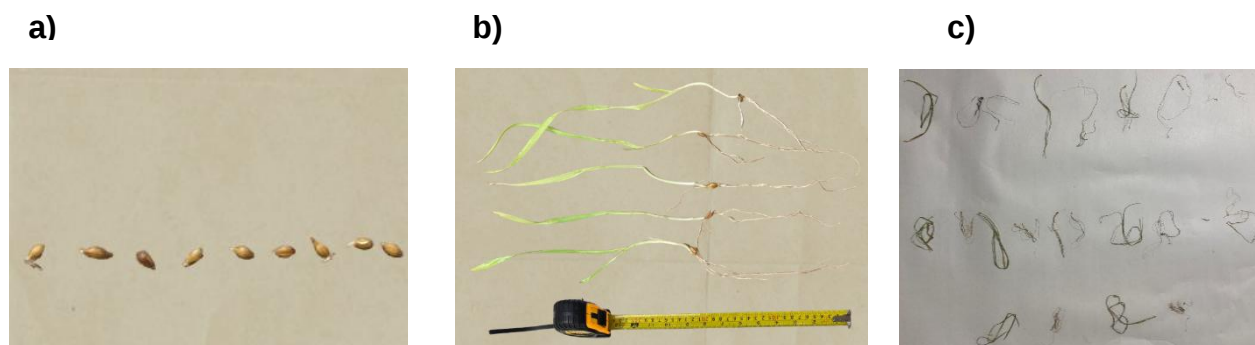


Figura 3.8 Medición de parámetros a) semillas germinadas, b) medición de raíces y tallos y c) determinación de biomasa.

La Tabla 3.14 presenta el crecimiento promedio de las raíces, la altura del tallo y la biomasa total de cada tratamiento. Para esto, se realizó un análisis estadístico ANOVA unifactorial. De igual forma se presenta el total de semillas germinadas por tratamiento.

Tabla 3.14 Longitud, altura y biomasa total promedio por tratamiento.

Tratamiento	Raíz (mm)	Altura del tallo (mm)	Biomasa total (g)	Semillas germinadas
Testigo	128.90	74.43	0.0556	42
5 %	64.97	45.53	0.0372	27
10%	44.23	41.53	0.0397	32
15 %	73.90	73.11	0.0580	35
Bioestimulante comercial	37.83	30.07	0.0164	27

Los resultados en la tabla anterior demuestran que la concentración del fermento fue dependiente en cuanto al crecimiento de la cebada, demostrando un efecto de inhibición en el desarrollo de raíces en los tratamientos del 5 y 10 % (Figura 3.9a), mientras que en el tratamiento del 15 % se observa un mayor rendimiento de biomasa total y mejores resultados en cuanto a la altura del tallo (Figura 3.9b). El bajo rendimiento del tratamiento del 5 y 10 % en el desarrollo radicular (64.97 y 44.23 mm respectivamente) en comparación con el testigo (128.90 mm), véase Figura 3.9c, puede estar relacionado con la alta acidez que presentaron estos fermentos y a sus altas concentraciones de ácido láctico (40 y 54 g/L), ya que Hei *et al.*, (2024) ha reportado ácidos orgánicos exógenos (compuestos ácidos que no son producidos por la planta) en altas concentraciones genera afectaciones en el desarrollo de la planta principalmente en el crecimiento de raíces y la reducción de absorción nutricional generando estrés fisiológico a las raíces jóvenes (Li *et al.*, 2022).

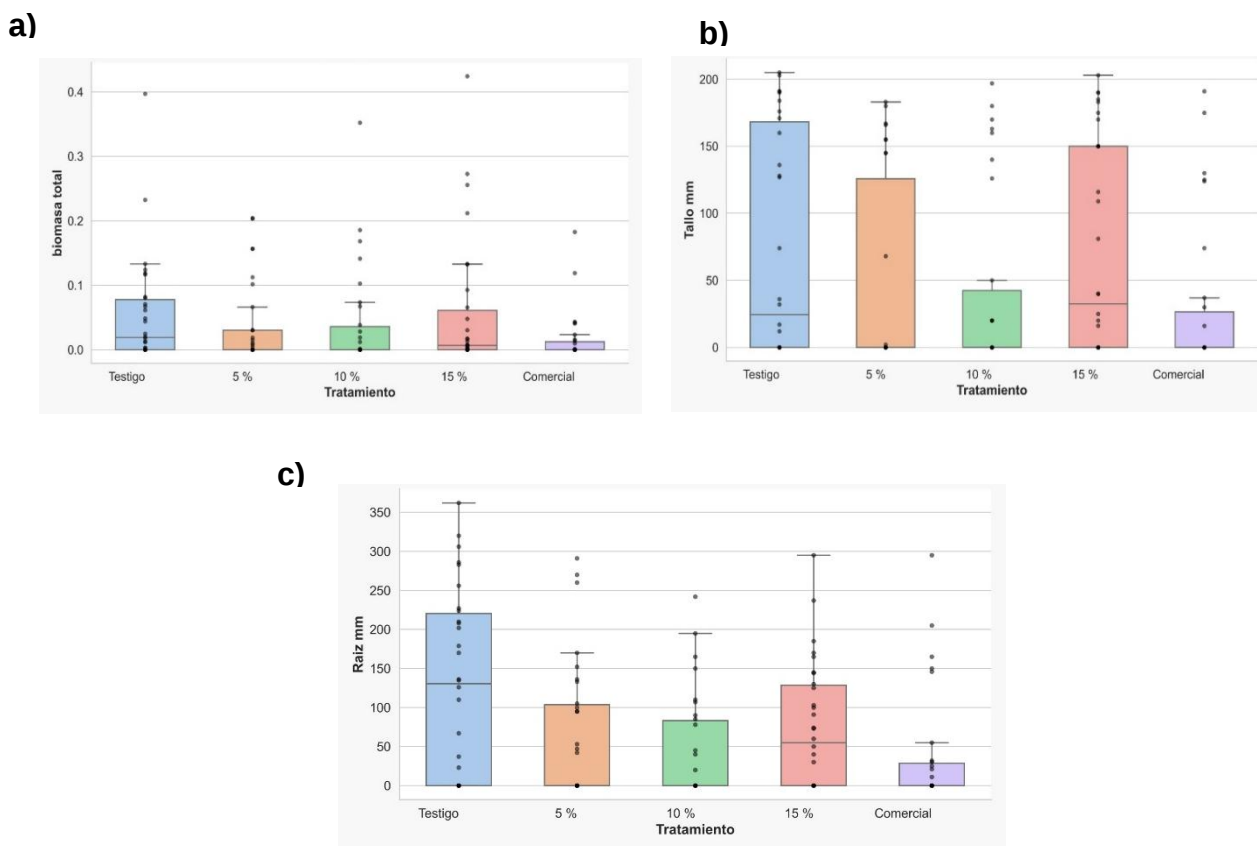


Figura 3.9 a) biomasa por tratamiento (g), b) Altura de tallo por tratamiento (mm)

c) Longitud de raíz por tratamiento (mm)

Por otro parte, el tratamiento del 15 % presentó el mejor desempeño en la biomasa total (0.058 g) y en la altura del tallo (73.11 mm), valores que superan y aproximan al testigo respectivamente, lo que sugiere que esta concentración de *L. rhamnosus* brinda beneficios al desarrollo de las plantas gracias a los microorganismos presentes y a la disponibilidad de nutrientes obteniendo los valores mayores de nitrógeno total (1.38 g/L) y proteínas (8.65 g/L). Esto coincide con lo reportado en múltiples investigaciones donde demuestran que el uso de bioestimulantes microbianos aumentan el crecimiento vegetal mediante la liberación de compuestos promotores, como fitohormonas, mayor disposición de nutrientes y una mejor eficiencia en la absorción de nitrógenos (Herrmann *et al.* 2022; Ranma *et al.*, 2022).

Finalmente, con respecto al bioestimulante comercial su bajo rendimiento a comparación de los fermentos apunta que la actividad microbiológica y la disponibilidad de nutrientes que presentó el fermento del 15 % fue más eficiente. Este resultado se respalda del trabajo de Herrman *et al.*, (2022) quien destaca que el efecto de los bioestimulantes dependen de su composición, concentración, condiciones ambientales y principalmente la compatibilidad con el cultivo. Los resultados presentados indican que el fermento probiótico del 15 % brindo mejores beneficios en el desarrollo de la cebada a comparación de las concentraciones menores que limitaron el desarrollo de la planta principalmente adjudicado a acidez y bajas concentraciones de nutrientes.

3.12 Crecimiento de encino empleando fermentos probióticos

La experimentación del encino se llevó a cabo por un periodo de 120 días evaluando de igual forma el efecto de los cinco tratamientos empleados en el experimento de la cebada en el desarrollo del encino *Quercus laurina*. Para esta experimentación, los encinos fueron regados con los fermentos probióticos concentrados. Cada tratamiento constó de 20 plántulas en la etapa de desarrollo vegetativo (Figura 3.10). Los parámetros evaluados a lo largo del experimento fueron número de hojas, altura de la planta, grosor del tallo, concentración de clorofila, biomasa de la planta y área foliar.



Figura 3.10 Experimento de crecimiento de encino.

La Figura 3.11 presenta la concentración de clorofila mensual correspondiente a cada tratamiento la cual se midió con un fluorímetro de clorofila “Opti-Science”.

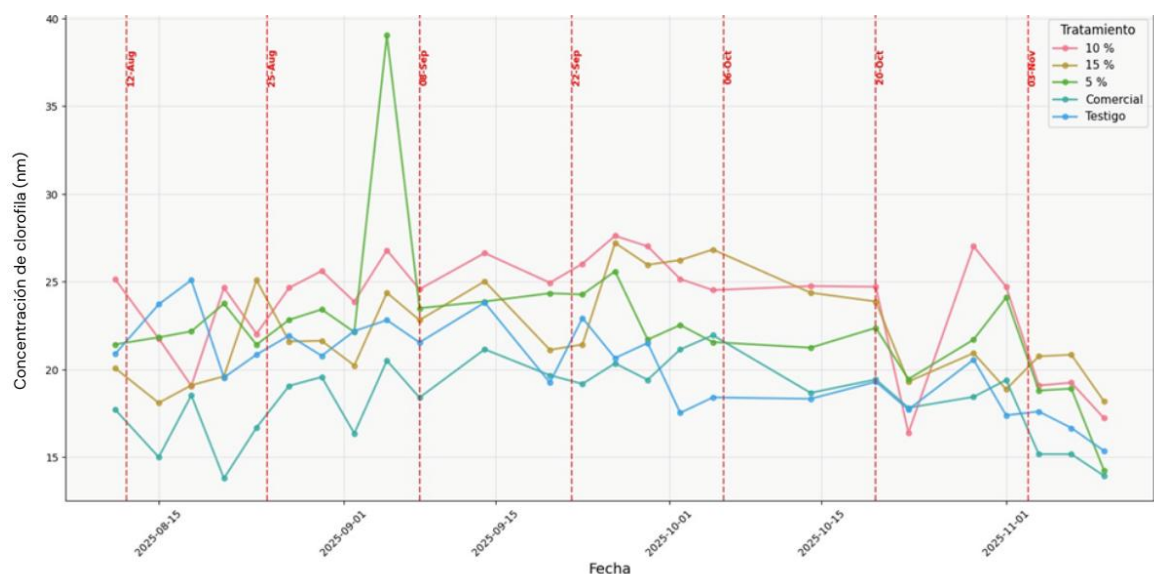


Figura 3.11 Concentración de clorofila (nm) mensual entre tratamientos

Los tratamientos del 10 y 15 % presentan el mayor incremento de clorofila posterior a las fechas de aplicación (líneas rojas). Esto sugiere que la actividad microbiana por parte de los fermentos probióticos a esas concentraciones permitió una mejor disposición de nutrientes, como nitrógeno, hierro y magnesio, encargados de la síntesis de clorofila, respuesta respaldada por los trabajos de Raman *et al.*, (2022) y Jaffar *et al.*, (2023) quienes indican que ante la presencia de BAL y levaduras hay una mayor movilización de nutrientes brindando una mayor estimulación a procesos fisiológicos de la plantas las cuales se encargan de su crecimiento. El tratamiento del 10 % fue el que presentó mayor estabilidad de clorofila tras haber sido aplicado, lo que apunta a que la dosificación de microorganismos no solo benefició el contenido de clorofila sino otros factores como la fotosíntesis y parámetros de estrés según lo descrito por Lv *et al.*, (2024). El tratamiento del 15 % de igual forma demostró picos relevantes de clorofila, sin embargo, este comportamiento no fue siempre continuo, lo cual llega a verse afectado por variaciones en el ambiente, frecuencia de aplicación y en el microbioma del suelo (Lv *et al.*, 2024). Por otra parte, el bioestimulante comercial obtuvo valores casi superiores al testigo, pero no mejores a los del 10 y 15 %, lo que está estrechamente ligado con lo reportado por

Batista-Sánchez *et al.*, (2024) ya que menciona que la eficiencia de estos productos dependerá de la formulación, compatibilidad con el suelo y condiciones ambientales. Como se esperaba del testigo, este obtuvo las concentraciones más bajas de todos los tratamientos y se aprecia una pronunciada caída de clorofila por parte de todos los tratamientos entre octubre y noviembre, esta disminución está relacionada por la baja de incidencia solar, factor fundamental en la actividad fotosintética tal como lo menciona Suzuki *et al.*, (2023), demostrando de esta forma que sin importar la composición de los fermentos probióticos, que demostraron favorecer a la acumulación de clorofila principalmente la concentración media (10 %), las condiciones ambientales, incidencia solar, son factores determinantes para mantener la pigmentación de las hojas.

Tras finalizada la experimentación, se sacrificaron 10 plántulas de cada tratamiento (Figura 3.12) para evaluar el desarrollo de raíz y la biomasa de la planta.



Figura 3.12 Experimento de crecimiento de encino.

La Tabla 3.15 presenta la altura (A, cm), crecimiento promedio de la planta, longitud de raíz (LR, cm) y la longitud del tallo (LT, cm) de cada tratamiento al finalizar el experimento; estas medidas se obtuvieron con el uso de regla, el diámetro del cuello de la raíz (DCR, mm), se realizó con un vernier digital (LEIDSANY con precisión ± 0.2 mm).

Tabla 3.15 Variables de medición por tratamiento.

Tratamiento	A (cm)	Crecimiento (cm)	LR (cm)	LT (cm)	DCR (mm)
Testigo	17.33	1.97	24	19.5	2.7
5 %	14.70	1.44	12.4	21.45	2.24
10%	15.88	1.58	22.15	14.7	2.24
15 %	15.53	1.75	18.9	17.5	2.45
Bioestimulante comercial	15.93	1.45	19.1	22.5	2.33

A partir de las variables previamente mencionadas se determinaron los índices de calidad de planta: índice de esbeltez (IE) y relación altura/ longitud de raíz (A/LR) como se muestra en la Tabla 3.16.

Tabla 3.16 Resultados de evaluación por tratamiento.

Tratamiento	IE	A/LR
Testigo	6.42	0.72
5 %	6.56	1.19
10%	7.09	0.72
15 %	6.34	0.82
Bioestimulante comercial	6.85	0.83

La Figura 3.12 presenta los intervalos para determinar la calidad de planta en especies forestales, la cual se extrajo del trabajo de investigación de Aquino-López *et al.*, (2023).

Característica	Índice	Fórmula	Calidad y rango		
			*Alta	**Media	***Baja
Morfológica	Altura (A)		15-25	10-14.9	<10
	Diámetro (D)		≥ 4	2.5-3.9	<2.5
	Índice de esbeltez (IE)	$IR = \frac{Altura (cm)}{Diámetro al cuello de la raíz (mm)}$	<6	6-8	>8
	Relación altura/longitud de raíz (A/LR)	$RA/LR = \frac{Altura (cm)}{Longitud de Raíz (cm)}$	<2	2.1-2.5	>2.5
	Relación biomasa aérea/biomasa raíz (R BA/BR)	$RBA/BR = \frac{Peso seco aereo (g)}{Peso seco radical (g)}$	1.5-2	2.1-2.5	>2.5
	Índice de Calidad de Dickson (ICD)	$IR = \frac{Altura (cm)}{Diámetro al cuello de la raíz (mm)}$	>0.5	0.49-0.5	<0.2

Figura 3.13 Intervalos para determinar la calidad de plantas en especies forestales.

En la Tabla 3.17 se presenta la comparación de los resultados de las variables de medición de cada tratamiento contra los intervalos de calidad descritos en la imagen anterior. Se realizó un análisis ANOVA unifactorial para evaluar si existieron pruebas significativas en la altura, diámetro de tallo y el índice de esbeltez.

Tabla 3.17 Calidad de planta por tratamiento

Tratamiento	Altura (calidad)	Diámetro (calidad)	IE (calidad)	A/LR (calidad)
Testigo	Alta	Media	Media	Alta
5 %	Media	Baja	Media	Alta
10%	Alta	Baja	Media	Alta
15 %	Alta	Baja	Media	Alta
Bioestimulante comercial	Alta	Baja	Media	Alta

Se aprecia que el testigo fue el tratamiento que alcanzó una mayor altura de todos los tratamientos (17.33 cm), sin embargo, el encino al ser una especie leñosa la altura no es un factor directo que influya en la calidad de la planta, ya que se requieren de plántulas que no tengan una elongación excesiva generando problemas como etiolación lo que disminuye la supervivencia de la planta en campo, esto se demostró mediante el ANOVA analizado ya que no se vio influenciada de manera significativa según el número de tratamientos ($p=0.562$). Por el contrario, el diámetro de tallo juega un papel fundamental en la supervivencia de las plantas ya que está relacionado con el soporte estructural, el testigo seguido del tratamiento del 15 % presentó mayores diámetros (2.7 y 2.45 cm respectivamente), sugiriendo un efecto por parte de los tratamientos en el desarrollo del encino. El desarrollo radicular es fundamental ya que permite a las plantas una mayor exploración de nutrientes y agua, cuando el suelo tiene una alta disponibilidad de nutrientes el crecimiento radícula tiende a disminuir, teniendo en cuenta este criterio, se buscaron valores intermedios en la elongación de raíces, es por ello que, los tratamientos del bioestimulante comercial (19.1 cm) y los fermentos al 10 y 15 % (22.15 y 18.9 cm respectivamente) presentaron un mejor desempeño.

La relación entre la altura y el diámetro del tallo se denomina índice de esbeltez, para este parámetro se buscó valores pequeños ya que entre mayor sea este valor menor es

la estabilidad de la planta, de esta forma comparando el valor de 6.42 del testigo contra los demás tratamientos, el fermento del 15 % produjo plántulas más compactas a diferencia de los otros tratamientos que produjeron plantas más esbeltas específicamente el tratamiento del 10 %. Esta respuesta se respalda mediante el análisis de ANOVA realizado ya que existió diferencia significativa entre los tratamientos ($p= 0.040$). Para la relación altura/ longitud raíz se aprecia que todos los tratamientos presentaron una calidad alta (< 2), sin embargo, se buscaron valores menores a 1, sin alejarse demasiado de dicho valor, ya que brinda un mejor balance en el desarrollo de la planta. Bajo este criterio, el tratamiento del 5 % está más cercano al límite superior aceptable de los *Quercus*, entre 0.7 y 1.2, aumentando el riesgo de daños hídricos por su baja estabilidad, mientras que el testigo y el tratamiento del 10 % (0.72) se aproximan al límite inferior lo que limita el crecimiento de la planta, teniendo eso en cuenta, el bioestimulante comercial (0.83) y el tratamiento del 15 % (0.82) demostraron un mejor balance en el crecimiento de la planta.

Se realizó la evaluación del pH del suelo de cada tratamiento para apreciar si hubo alguna modificación en el valor inicial de 4.94 (Figura 3.13).



Figura 3.13 Evaluación de pH por tratamiento.

En la Tabla 3.18 se presentan los pH correspondientes a cada tratamiento. Se aprecia que los tratamientos sometidos a las fermentaciones probióticas y el bioestimulante comercial presentaron alteraciones en su pH pasando de un suelo fuertemente ácido a un suelo neutro.

Tabla 3.18 Evaluación de pH por tratamiento.

Inóculo (%)	pH
Testigo	4.99
5 %	6.67
10 %	6.73
15 %	6.83
Bioestimulante comercial	6.92

A pesar de que los fermentos probióticos presentan un pH igual o menor a 4 cuenta con una alta concentración de ácido láctico (40.5-54 g/L) lo que generó que el suelo fuertemente ácido llegara a valores cercanos a la neutralidad. Este comportamiento se relaciona con la composición química con la que cuentan las fermentaciones. El inóculo del 15 % particularmente presentó las mayores concentraciones de proteínas (8.65 g/L) y nitrógeno total (1.38 g/L), permitiendo una mayor aportación de materia orgánica nitrogenada al suelo. Trabajos como el de Yi *et al.* (2022) mencionan que la aplicación de compuestos proteicos y nitrogenados permite la liberación de cationes (NH_4^+) provocando un aumento de las bases del suelo provocando un incremento en el pH de los suelos. Otros factores como el aumento de la materia orgánica y de la capacidad de intercambio catiónico favorecen al rápido consumo de ácidos orgánicos presentes en fermentaciones probióticas (Raman *et al.*, 2022).

Aparte de la modificación que presentó el pH del suelo también se apreció la presencia de macrofauna (lombrices) y hongos (micorrizas), véase la Figura 3.15, en los suelos a los que se aplicaron los fermentos probióticos.



Figura 3.15 Presencia de macrofauna y hongos.

Los fermentos probióticos, al ser ricos en materia orgánica, proteínas y nitrógeno, actúan como una alta fuente de alimento para especies detritívoras presentes en el suelo como lo son las lombrices. La presencia de esta especie beneficia a la degradación de materia orgánica permitiendo una mayor actividad microbiana creando un ambiente apto para su proliferación y existencia. Estudios como el de Vyas *et al.*, (2022) demuestra que el uso de productos derivados de residuos o enmiendas orgánicas aumentan la incidencia de lombrices a diferencia de los tratamientos que no las usan. Estudios han demostrado una estrecha relación entre las BAL y las lombrices que ya al adicionar BAL permiten una mayor degradación de materia orgánica mejorando la calidad del suelo para las lombrices. Es por ello, que los tratamientos probióticos a pesar de sus diferentes concentraciones al contar con la presencia del BAL y levaduras generaron un microhábitat óptimo para el desarrollo de megafauna. Ante la presencia de lombrices permitió una mayor diversidad microbiana en el suelo permitiendo así la presencia de hongos micorrícicos como micorrizas. Estudios como el de Thapa y Mowrer (2022) destacan que la presencia de micorrizas se da en medios ricos en carbono y que no cuenten con una alta concentración de fósforo como lo es el caso de los fermentos

probióticos que cuentan con valores de fósforo muy bajos. En contraste, el testigo y bioestimulante comercial apunta a no haber generado la misma cantidad de materia orgánica ni actividad microbiana necesaria para atraer a estos organismos.

A parte de la presencia de macrofauna en el suelo de las plántulas regadas con fermentos probióticos, se aprecia que las hojas de estos mismos tratamientos presentaron mejores características fisiológicas como se aprecia en la Figura 3.16.

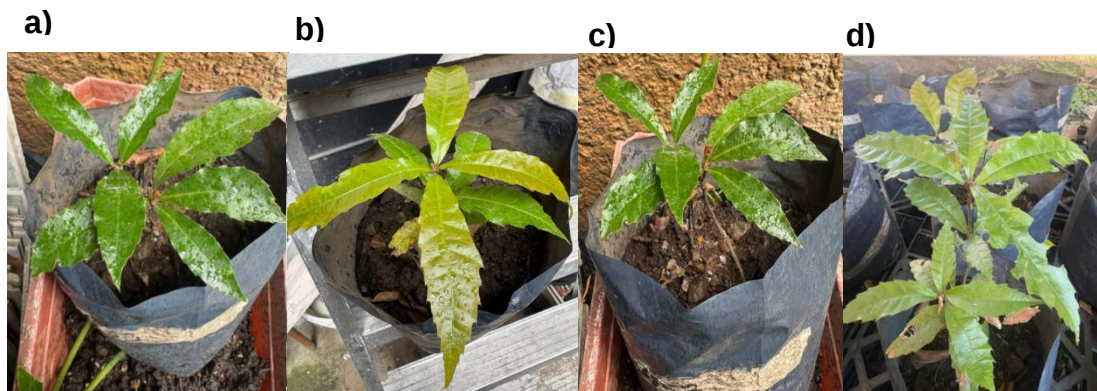


Figura 3.16 Fisiología de las hojas por tratamiento a) 5 %, b) 10 %, c) 15 % y d) testigo y bioestimulante comercial.

Los tratamientos sometidos a los fermentos probióticos presentaron una mayor resistencia a plagas en comparación con las plantas tratadas con agua y bioestimulante comercial (Figura 3.16d), las cuales presentaron mayores afectaciones por insectos. Trabajos como el de Chandrasekaran *et al.*, (2022) mencionan que microorganismos como bacterias y hongos durante su metabolismo, son capaces de producir compuestos orgánicos volátiles microbianos (mVOC) los cuales son de suma importancia en la agricultura sostenible permitiendo el crecimiento de la planta y principalmente la protección ante plagas poseyendo la eficiencia necesaria para sustituir fertilizantes y pesticidas.

CONCLUSIONES

Los GGCA demostraron ser un sustrato viable para realizar fermentaciones probióticas empleando *Lactobacillus rhamnosus*, gracias a su contenido de carbohidratos (14.89 g/L) y proteínas (19.60 %), así como a sus condiciones fisicoquímicas, específicamente un pH de 5 y su contenido de humedad favoreciendo la proliferación y crecimiento de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, los resultados microbiológicos muestran una concentración relativamente baja de bacterias aerobias (3.93 log₁₀ UFC/mL) después de su pretratamiento, cuyo valor es inferior al reportado por otros autores. Además, la ausencia de bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras en la caracterización inicial indica que el sustrato es viable para la fermentación probiótica, aunque la optimización de las condiciones de inoculación podría potenciar aún más su desempeño en trabajos futuros.

El proceso de biotransformación anaerobia se implementó utilizando tres inóculos distintos de *L. rhamnosus* al 5, 10 y 15 % v/v. Durante la evaluación de los inóculos, el del 10% presentó una mayor velocidad máxima de crecimiento y la mayor densidad celular final, sugiriendo una fermentación más eficiente. No obstante, este tratamiento presentó un mayor tiempo de adaptación microbiana (20.54 h) en comparación con el inóculo del 15 %, presentando un tiempo de adaptación de 17.32 h. Con respecto a su contenido nutricional, el tratamiento del 15 % presentó valores más altos en proteínas y nitrógeno (8.65 g/L y 1.38 g/L, respectivamente) representando una fuente nutricional viable para las plantas. Por el contrario, el tratamiento del 5 % presentó la menor degradación de carbohidratos, indicando un proceso fermentativo menos activo, pero de menor costo de producción. El inóculo del 10 % se perfila como el tratamiento más adecuado si se busca maximizar la eficiencia cinética microbiana y densidad celular, a pesar de requerir un mayor consumo de sustrato y un proceso más controlado para evitar condiciones de aerobiosis. Por otra parte, el inóculo del 15 % destacó por su alta producción de proteínas y BAL, aunque su densidad celular es mínima. De igual forma, el inóculo del 10 % se identifica como la concentración más eficiente para la producción de fermentos probióticos viables a su aplicación como bioestimulante, mientras que los

tratamientos del 15 y 5 % pueden ser empleadas como alternativas en base a los requerimientos nutricionales y económicos deseados.

Con respecto a la evaluación fisicoquímica y microbiológica de los fermentos probióticos obtenidos confirmó que el proceso de biotransformación con *Lactobacillus rhamnosus* modificó significativamente la composición de los GGCA. Fisicoquímicamente, el inóculo del 15 % destacó por presentar los valores más altos de proteínas (8.65 g/L) y nitrógeno total (1.38 g/L), constituyendo la fuente nutricional más enriquecida para la aplicación vegetal. El análisis FT-IR evidenció una señal de celulosa más notable a las 72 horas de fermentación en los tres tratamientos, atribuido a la degradación de componentes amorfos como la hemicelulosa y la lignina, sugiriendo un aumento en el índice de cristalinidad de la biomasa. Microbiológicamente, los tres fermentos alcanzaron concentraciones de bacterias ácido lácticas entre 9.85 y 10.30 log₁₀ UFC/mL, superando lo reportado en literatura comparable, lo que respalda la viabilidad de los fermentos obtenidos como bioestimulantes. En cuanto a la cuantificación de biomasa, el inóculo del 15 % presentó el mayor rendimiento final (36.94 g/L) y la mayor eficiencia de conversión (0.99 g biomasa/g carbohidrato), superando los valores reportados por otros autores para fermentaciones con cepas probióticas en condiciones optimizadas.

El uso de biomásas probióticas en semillas de cebada presentó múltiples efectos, durante el periodo de experimentación (1 mes), a pesar de que la germinación de los tratamientos con fermentos probióticos fue menor al testigo, el inóculo del 15 % igualó la altura del testigo e incluso superó la biomasa total del resto de los tratamientos, sugiriendo un mayor efecto de este tratamiento después de la etapa de adaptación de las plántulas; por el lado contrario, los fermentos del 5 y 10 % tuvieron un menor desempeño en todas las variables evaluadas y el bioestimulante comercial tuvo el menor rendimiento de los cinco tratamientos, resaltando el potencial que tienen las biomásas probióticas como bioestimulantes para el desarrollo de la cebada específicamente en etapas posteriores a la germinación. Por su parte, la aplicación de biomásas probióticas en especies forestales, como el encino, evidenció mejoras en la altura, el diámetro del cuello de raíz y concentración de clorofila, en comparación con el testigo y el bioestimulante comercial. de estas mejoras el inóculo del 15 % brindó un mayor índice de esbeltez denotando un

mejor equilibrio entre el crecimiento de raíz y tallo, mientras que el fermento del 10 % mostró un desarrollo radicular mayor al igual que una mejor respuesta fotosintética como lo es la concentración de clorofila y finalmente el inóculo del 5 %, a pesar de presentar el menor desempeño en comparación con los otros inóculos, brindó mejores resultados que el testigo. Con respecto al suelo, al regar los tratamientos con los fermentos concentrados permitieron un incremento en el pH inicial (4.94) a valores aproximados a la neutralidad (6.67 – 6.83) ofreciendo una mayor disposición de nutrientes y actividad microbiana lo cual está estrechamente relacionado con la presencia de micorrizas y macrofauna en estos tratamientos que señalan una mejora en salud y funcionalidad biológica de los suelos, lo cual no se presenta en el bioestimulante comercial, ni en el testigo. Por lo tanto, las biomasas probióticas concentradas demostraron ser una alternativa amigable con el medio ambiente que permite un mejor desarrollo de los encinos al igual que la restauración y enriquecimiento de la composición de los suelos.

RECOMENDACIONES

Someter los GGCA a un pretratamiento ácido o enzimático para aumentar la velocidad en la que se lleva a cabo la digestión anaerobia, aunque se debe tener en cuenta que este tipo de pretratamientos incrementan los costos del proceso.

Para futuros trabajos, se recomienda ampliar la caracterización fisicoquímica de los fermentos, para incluir la determinación de aminoácidos libres y ácidos orgánicos distintos al láctico, con el fin de identificar los metabolitos responsables del efecto bioestimulante.

Se recomienda ajustar el pH de los fermentos previo a su aplicación para realizar un análisis del cómo afecta al índice de germinación y al desarrollo radicular de la semilla. Otro aspecto a considerar sería el método de aplicación (foliar o localizado) para evaluar si este factor maximiza el efecto de germinación de la plántula sin afectar su posterior desarrollo.

Se propone evaluar los diferentes posibles periodos de aplicación, buscando que estén sean realizadas cuando los poros de las plantas estén más abiertos permitiendo un mejor aprovechamiento del bioestimulante por parte de la planta. Y realizar una caracterización final de los suelos tras la aplicación de las biomasas, para determinar las posibles modificaciones generadas en su composición y la interacción de los fermentos con otros microorganismos presentes en los suelos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abebaw, G. (2021). Review on structure, functional and nutritional composition of barley (*Hordeum vulgare*). *J. Nutrition and Food Processing*, 4(2), 1-8.
- Aguiar, S., Estrella, M. E., & Cabadiana, H. U. (2022). Residuos agroindustriales: su impacto, manejo y aprovechamiento. *Axioma*, (27), 5-11.
- Alfaro-Reyna, T., Delgado-Balbuena, J., García-Cuevas, X., Chávez-Aguilar, G., & Estrada-García, J. A. (2022). Cambios en la estructura y composición forestal en un bosque de pino-encino en Jaumave, Tamaulipas, México: Changes in forest structure and composition in a pine-oak forest in Jaumave, Tamaulipas, Mexico. *e-CUCBA*, (18), 40-46.
- Baraka, F., Erdocia, X., Velazco-Cabral, I., Hernández-Ramos, F., Dávila-Rodríguez, I., Maugin, M., & Labidi, J. (2024). Impact of deep eutectic solvent pre-treatment on the extraction of cellulose nanofibers. *Cellulose*, 31(16), 9645-9660.
- Barrios-Calderón, R. D. J., Pérez Pérez, J. E., Torres Velázquez, J. R., & Aguirre-Cadena, J. F. (2022). Estructura y composición florística de un bosque de *Pinus-Quercus* en El Porvenir, Chiapas. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 13(73), 50-74.
- Bianco, A., Melito, S., Garau, M., Giannini, V., Zara, G., Assandri, D., ... & Budroni, M. (2024). The potential use of brewers' spent grain-based substrates as horticultural bio-fertilizers. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1404914.
- Brownlie, E. J., Chaharlangi, D., Wong, E. O. Y., Kim, D., & Navarre, W. W. (2022). Acids produced by lactobacilli inhibit the growth of commensal Lachnospiraceae and S24-7 bacteria. *Gut Microbes*, 14(1), 2046452.
- Čater, M., Fanel, L., Malovrh, Š., & Logar, R. M. (2015). Biogas production from brewery spent grain enhanced by bioaugmentation with hydrolytic anaerobic bacteria. *Bioresource technology*, 186, 261-269.
- Cervantes-Elizarrarás, A., Castro-Guzmán, W., Morales-Vargas, A. C., & Urrutia-Hernández, T. A. U. H. (2022). Probióticos extraídos de fuentes vegetales y animales. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 8(16), 8-13.
- Cerveceros de México. (2022). La agroindustria cervecera en México reporte anual 2021. Obtenido de <https://cervecerosdemexico.com/revistas/reporte-enero-marzo-2022.pdf>.
- Chavarría-Valverde, M. Y., Gastezzi-Arias, P., & Ching-Wong, A. V. W. (2024). Musgos y líquenes: Sus características biológicas para su conservación y uso sostenible en el Cerro de la Muerte, Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 21(48), 48-55.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2024, enero). Áreas Naturales Protegidas Federales de México, enero 2024, modificado para el geoportal del SNIB. <http://geoportal.conabio.gob.mx/metadatos/doc/html/anpmx.html>
- CONAFOR. (2023, 16 enero). Veracruz se prepara para la temporada de incendios forestales 2023. [https://www.gob.mx/conafor/prensa/veracruz-se-prepara-para-la-temporada-de-incendios-forestales-2023#:~:text=La%20Comisi%C3%B3n%20Nacional%20Forestal%20\(CONAFOR,y%20el%20renuevo%20con%20261.37](https://www.gob.mx/conafor/prensa/veracruz-se-prepara-para-la-temporada-de-incendios-forestales-2023#:~:text=La%20Comisi%C3%B3n%20Nacional%20Forestal%20(CONAFOR,y%20el%20renuevo%20con%20261.37)

Censos Económicos. (2019). Conociendo la industria de la cerveza. En INEGI. Recuperado 2 de febrero de 2025, de https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/702825198428.pdf

Chang, K. L., Liu, C. H., Phitsuwan, P., Ratanakhanokchai, K., Lin, Y. C., Dong, C. D., ... & Yang, G. C. (2021). Enhancement of biological pretreatment on rice straw by an ionic liquid or surfactant. *Catalysts*, 11(11), 1274.

Cremonez, P. A., Teleken, J. G., Meier, T. R. W., & Alves, H. J. (2021). Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, 281, 111854.

Crespo González, N. (2022). Incremento de la biodegradabilidad de los residuos lignocelulósicos mediante inoculantes microbianos: aplicación en compostaje.

Escandón, M., Castillejo, M. Á., Jorrín-Novó, J. V., & Rey, M. D. (2021). Molecular research on stress responses in *Quercus* spp.: from classical biochemistry to systems biology through omics analysis. *Forests*, 12(3), 364.

Eliopoulos, C., Arapoglou, D., Chorianopoulos, N., Markou, G., & Haroutounian, S. A. (2022). Conversion of brewers' spent grain into proteinaceous animal feed using solid state fermentation. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(20), 29562-29569.

Estrada-García, J., Díaz-González, I., Hernández-Aguilar, E., & Méndez-Contreras, J. M. (2024). 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*, 1-15.

FAO. (2020). Evaluación de los Recursos Forestales Mundiales 2020 – Principales resultados. En Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura. <https://doi.org/10.4060/ca8753es>

FGM (2022), Diagnóstico ambiental y socioeconómico para la implementación de procesos de ganadería regenerativa en Veracruz, México, L. Zavaleta-Lizárraga, J. Vera-Cartas e I.S. Cortés-Flores (autores), Agencia Francesa de Desarrollo-Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza, México.

Fernández Fernández, S. (2022). Caracterización de bacterias ácido lácticas (BAL) para la producción de ácido láctico (AL) a escala de planta piloto. Tesis de licenciatura (o maestría), Universidad de Costa Rica, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería de Biosistemas.

Fernández Rodríguez, C., Martínez Torres, E. J., Morán Palao, A., & Gómez Barrios, X. (2016). Processos biológicos de tratamento do soro de leite para a produção de biogás e hidrogénio. Revisão da literatura. *Revista ION*, 29(1), 47-62.

Flores, A., & González, J. M. (2021). Evaluación cuantitativa de la germinación de *Quercus variabilis* Blume en tres tamaños de semilla. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 12(68), 202-211.

Flores, A., Romero-Sánchez, M. E., Pérez-Miranda, R., Pineda-Ojeda, T., & Moreno-Sánchez, F. (2021). Potencial de restauración de bosques de coníferas en zonas de movimiento de germoplasma en México. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 12(63), 4-27.

Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., & Espen, L. (2022). Biostimulants on crops: Their impact under abiotic stress conditions. *Horticulturae*, 8(3), 189.

García, M. F. R., González, M. G., Bueno, A. M., & de México, C. E. V. (2022). Enfermedades comunes de la cebada en México.

García Valdés, L. E. (2020). Estudio de Factibilidad técnico-económica de una planta de cerveza artesanal.

Germán Vargas, D., Montes Zamora, L. Á., Sánchez Pantoja, J. J., & Hernández Rodríguez, D. A (2020). Evaluación económica del proyecto de fabricación y comercialización de cerveza artesanal tipo sweetstout.

Girón, X. S., Tlaltipa, R. C., & Pérez-Pérez, R. E. (2023). Diversidad de líquenes epífitos en bosques de Quercus de Morelos, México: Comunidad liquénica de Quercus. *Revista Bosque*, 44(3), 581-594.

Gosal, S. K., Kaur, J., & Kaur, J. (2017). Plant growth-promoting rhizobacteria: a probiotic for plant health and productivity. *Probiotics and plant health*, 589-600.

Graciano-Ávila, G., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O. A., González-Tagle, M. A., Treviño-Garza, E. J., Mora-Olivo, A., & Corral-Rivas, J. J. (2020). Cambios estructurales de la vegetación arbórea en un bosque templado de Durango, México. *Acta botánica mexicana*, (127).

Gutiérrez-Antonio, C., De Lira-Flores, J. A., Quiroz-Pérez, E., & Martínez-Guido, S. I. (2020). Conversión de residuos agroindustriales para la generación de biocombustibles, productos de valor agregado y bioenergía. *Digital Ciencia@ UAQRO*, 13(1), 27-35.

Granget, C., Manikandan, N. A., Amulya, K., Dabros, M., Fahy, S., Kelleher, S. M., ... & Freeland, B. (2024). Brewer's spent grain as a self-sufficient feedstock for homofermentative production of optically pure L-lactic acid using *Lactobacillus rhamnosus*. *Environmental Technology & Innovation*, 34, 103582.

Gutiérrez Pacheco, V., Silva Gómez, S. E., & Varela Olguín, L. L. (2021). Flora del bosque de encino (*Quercus*: *Fagaceae*) de dos barrancas de la ciudad de Puebla, México. *Madera y bosques*, 27(1).

Guzmán Soria, E., Garza Carranza, M. T. D. L., Atlatenco Ibarra, Q., & Terrones Cordero, A. (2024). La industria manufacturera en México: un análisis de su productividad y eficiencia, 1993-2020. *Economía, sociedad y territorio*, 24(74).

Hawksworth, D. L., Iturriaga, T., & Crespo, A. (2005). Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos. *Revista Iberoamericana de micología*, 22(2), 71-82.

Hernández-Pérez, E., García-Franco, J. G., Vázquez, G., & Cantellano de Rosas, E. (2022). Cambio de uso de suelo y fragmentación del paisaje en el centro de Veracruz, México (1989-2015). *Madera y bosques*, 28(1).

Ibarra Lara, M. D. L. Á. (2023). Los macronutrientes nitrógeno, fósforo y potasio, en la producción del cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) en Ecuador (Bachelor's thesis, BABAHOYO).

Jerome, D. (2018, 29 mayo). IUCN red list of threatened species: *Quercus laurina*. IUCN Red List Of Threatened Species. Recuperado 5 de febrero de 2025, de <https://www.iucnredlist.org/species/78968154/78968168>

Kalak, T. (2025). Characterization and Sustainable Valorization of Brewers' Spent Grain for Metal Ion and Organic Substance Removal. *Sustainability*, 17(20), 9288.

Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., ... & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in microbiology*, 14, 1216674.

Lech, M. (2021). The Influence of by-Products From Brewery Spent Grain Hydrolysis on Lactic Acid Fermentation Efficiency.

Leiva, C. I., Moreno, N. N., Vitantonio, L., López, D. N., Galante, M., Forastieri, P. S., Pedrido, M.L., Spelzini, D., Giordano, E. D. V., y Boeris, V. (2021). Evaluación de la incorporación de bagazo cervecero en salchichas veganas.

León, R. I. G. (2022). Aplicación de Modelos de Economía Circular en México y Colombia: Estudio de caso. *Interconectando Saberes*, (14), 203-218.

López-Padrón, I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vázquez, M., & Cabrera-Rodríguez, J. A. (2021). Uso de bioestimulantes en el cultivo del garbanzo. *Cultivos Tropicales*, 42(4).

Mamani, J., Llumipanta, F., Ramos, S., Rea, J., Alucho, J., Saltos, D., ... & Pilco, C. J. (2021). Sistemas de producción de biogás: fundamento, técnicas de mejora, ventajas y desventajas. *Agroindustrial Science*, 11(2), 239-247.

Manzanilla Quijada, G. E., Mata Balderas, J. M., Treviño Garza, E. J., Aguirre Calderón, Ó. A., Alanís Rodríguez, E., & Yerena Yamallel, J. I. (2020). Diversidad, estructura y composición florística de bosques templados del sur de Nuevo León. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 11(61), 94-123.

Manolikaki, I., & Diamadopoulos, E. (2020). Agronomic potential of biochar prepared from brewery byproducts. *Journal of Environmental Management*, 255, 109856.

Martínez Martínez, H. (2020). Esquema de financiamiento en agricultura por contrato de cebada maltera en México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chapingo.

Martínez-Prats, G., Silva-Hernández, F., & Chacón-Lozano, L. E. (2022). Análisis del sector agroindustrial de México 2020-2021. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío*, 34(S5), 133-138.

Morales, D. (2021). Oak trees (*Quercus* spp.) as a source of extracts with biological activities: A narrative review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 116-125.

Nimis, P. L., Scheidegger, C., & Wolseley, P. A. (2002). Monitoring with lichens—monitoring lichens: an introduction (pp. 1-4). Springer Netherlands.

Naibaho, J., Butula, N., Jonuzi, E., Korzeniowska, M., Laaksonen, O., Föste, M., ... & Yang, B. (2022). Potential of brewers' spent grain in yogurt fermentation and evaluation of its impact in rheological behaviour, consistency, microstructural properties and acidity profile during the refrigerated storage. *Food Hydrocolloids*, 125, 107412.

Naibaho, J., & Korzeniowska, M. (2021). Brewers' spent grain in food systems: Processing and final products quality as a function of fiber modification treatment. *Journal of Food Science*, 86(5), 1532-1551.

Núñez Betancourt, E. Y. (2020). Caracterización de las tecnologías y de la competitividad de la producción de la cebada en México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chapingo.

Outeirino, D., Costa-Trigo, I., Ochogavias, A., de Souza Oliveira, R. P., Guerra, N. P., Salgado, J. M., & Domínguez, J. M. (2024). Biorefinery of brewery spent grain to obtain bioproducts with high value-added in the market. *New Biotechnology*, 79, 111-119.

Pandey, S. S., Jain, R., Bhardwaj, P., Thakur, A., Kumari, M., Bhushan, S., & Kumar, S. (2022). Plant probiotics—endophytes pivotal to plant health. *Microbiological Research*, 263, 127148.

Panjičko, M., Zupančič, G. D., Fanel, L., Logar, R. M., Tišma, M., & Zelić, B. (2017). Biogas production from brewery spent grain as a mono-substrate in a two-stage process composed of solid-state anaerobic digestion and granular biomass reactors. *Journal of Cleaner Production*, 166, 519-529.

-
- Poulsen Silva, E. J. (2021). Actividades biológicas de los líquenes: identificación de metabolitos de importancia farmacéutica: Escuela de Química y Farmacia.
- Puligundla, P., & Mok, C. (2021). Recent advances in biotechnological valorization of brewers' spent grain. *Food science and biotechnology*, 30(3), 341-353.
- De Protección Al Ambiente, P. F. (2020, 23 marzo). Importancia de los ecosistemas forestales; especies de los bosques. . . gob.mx. Recuperado 3 de octubre de 2024, de <https://www.gob.mx/profepa/articulos/importancia-de-los-ecosistemas-forestales-especies-de-los-bosques-y-selvas?idiom=es>
- Ramilla, M., Fernández-Ortúzar, J. E., González-Esparza, A., & Ravanal, M. C. (2023). Bagazo producido en la industria cervecera: Alternativas de valorización y reutilización. *Agro Sur*, 51(1), 33-42.
- Rivera, B. I. G. (2022). De servicio social a empresa: Maltas Cerveceras de México. *Revista de divulgación científica iBIO*, 4(2), 23-25.
- Saha, S., Khatun, F., Nahiduzzaman, M., Mahmud, M. P., Rahman, M. M., & Yasmin, S. (2022). A greener way of lactic acid production from cellulose-rich waste materials utilising cellulolytic bacteria population from insect gut. *Bioresource Technology Reports*, 18, 101021.
- Salazar, R.I. (2024). Diseño y evaluación de medios de cultivo para generación y propagación de callo de los encinos *Quercus Calophylla* y *Quercus Laurina*, con potencial silvícola. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.
- Saldarriaga-Hernandez, S., García-Béjar, J., Esparza-Vasquez, A., González-Díaz, R. L., López-Torres, E. J., López-Velázquez, J. C., ... & Carrillo-Nieves, D. (2025). Integrated Biorefinery of Brewer's Spent Grain for Second-Generation Ethanol, Mycoprotein, and Bioactive Vinasse Production. *Fermentation*, 11(11), 627.
- Sánchez-Girón, X., Cerros-Tlatilpa, R., & Pérez-Pérez, R. E. (2023). Diversidad de líquenes epífitos en bosques de *Quercus* de Morelos, México. *Bosque (Valdivia)*, 44(3), 581-594.
- Sánchez, J. D. C., Escobedo, M. K. L., Vásquez, C. B. B., Vásquez, K. M. E. M., & Torres, C. A. L. (2023). Producción de Biogás y Bioabonos a partir de desechos lignocelulósicos en un biorreactor anaeróbico. *Revista Alfa*, 7(21), 583-597.
- Santacruz-Salas, A. P., Antunes-Pereira, M. L., Gomez-Herrera, S. A. N. T. I. A. G. O., Velez-Lozano, J. A., & Mancini, S. D. (2023). Sostenibilidad en la industria cervecera: una revisión crítica de los residuos generados y su gestión. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 21(2), 178-194.
- Schmook, B., & Vance, C. (2009). Agricultural policy, market barriers, and deforestation: the case of Mexico's southern Yucatán. *World Development*, 37(5), 1015-1025.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018, 6 julio). Bosques templados de México, riqueza forestal y belleza escénica. Gobierno de México. <http://www.go.mx/semarnat/articulos/bosques-templados-de-mexico-riqueza-forestal-y-belleza-esenica>
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2020, 31 de diciembre). Programa Nacional Forestal 2020-2024. Diario Oficial de la Federación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609275&fecha=31/12/2020#gsc.tab=0
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2023). Análisis de la Balanza Comercial Agroalimentaria1 de México, enero 2023. En Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Recuperado 15 de febrero de 2025, de

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/809009/Balanza_Comercial_Agropecuaria_y_Agroindustrial_enero_2023.pdf

Silva García, J. E., Aguirre Calderón, O. A., Alanís Rodríguez, E., Jurado Ybarra, E., Jiménez Pérez, J., & Vargas Larreta, B. (2021). Estructura y diversidad de especies arbóreas en un bosque templado del noroeste de México. *Polibotánica*, (52), 89-102.

Silveyra, E., Pereira, V., Asquino, N., Vigil, G., Bologna, R., Bueno, L., & Regina, C. (2022). Probióticos y enfermedad periodontal. Revisión de la literatura. *International journal of interdisciplinary dentistry*, 15(1), 54-58.

Soto Molina, V. H. (2014). Glaciar norte del Citlaltépetl y su relevancia hidrológica para las localidades de la parte alta de la Cuenca Jamapa-Cotaxtla.

Taib, M., Rezzak, Y., Bouyazza, L., & Lyoussi, B. (2020). Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Quercus* species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1), 1920683.

Tong, L., Zhang, X., Hao, H., Liu, Q., Zhou, Z., Liang, X., ... & Yi, H. (2021). *Lactobacillus rhamnosus* GG derived extracellular vesicles modulate gut microbiota and attenuate inflammatory in DSS-induced colitis mice. *Nutrients*, 13(10), 3319.

Tryjarski, P., Gawron, J., Andres, B., Obiedzińska, A., & Lisowski, A. (2022). FTIR analysis of changes in chipboard properties after pretreatment with *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *Energies*, 15(23), 9101.

Vaca-Sánchez, M. S., González-Rodríguez, A., Maldonado-López, Y., Oyama, K., de Faria, M. L., Fagundes, M., & Cuevas-Reyes, P. (2021). Genetic and functional leaf traits variability of *Quercus laurina* along an oak diversity gradient in Mexico. *European Journal of Forest Research*, 140, 1211-1225.

Valencia-A., S., (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (75), 33-53.

Valdez Duffau, M. E., & Cisneros Guachimboza, P. K. (2020). Gobernanza ambiental, Buen Vivir y la evolución de la deforestación en Ecuador en las provincias de Tungurahua y Pastaza. *Foro: Revista de derecho*, (34), 146-167.

Vázquez-Alfaro, M., Aguilar-Ávila, J., & Palacios-Rangel, M. I. (2022). Cadena de valor de la industria cervecera en México. *Nova scientia*, 13(27).

Ventura-Ríos, J., Santiago-Ortega, M. A., Maldonado-Peralta, M. D. L. Á., Álvarez-Vázquez, P., Maldonado-Peralta, R., Barrera-Martínez, I., & Wilson-García, C. Y. (2021). Biomass of *Urochloa humidicola* as raw material to produce biofuel.

Viteri, A. C. (2022). Técnicas para la biotransformación de residuos agroindustriales y disminución de sus impactos ambientales. *HIGH TECH-ENGINEERING JOURNAL*, 2(1), 78-88.

Von Thaden, J., Manson, R. H., Congalton, R. G., López-Barrera, F., & Jones, K. W. (2021). Evaluating the environmental effectiveness of payments for hydrological services in Veracruz, México: A landscape approach. *Land Use Policy*, 100, 105055.

Wonglapsuwan, M., Pahumunto, N., Teanpaisan, R., & Surachat, K. (2024). Unlocking the genetic potential of *Lactocaseibacillus rhamnosus* strains: Medical applications of a promising probiotic for human and animal health. *Heliyon*, 10(8).

Wu, W., Pang, B., Yang, R., Liu, G., Ai, C., Jiang, C., & Shi, J. (2020). Improvement of the probiotic potential and yield of *Lactobacillus rhamnosus* cells using corn steep liquor. *Lwt*, 131, 109862.

2540 SOLIDS

Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 24th.
<https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.030>

Zhuang, J., Li, M., Pu, Y., Ragauskas, A. J., & Yoo, C. G. (2020). Observation of potential contaminants in processed biomass using fourier transform infrared spectroscopy. *Applied Sciences*, 10(12), 4345.

.Granget, C., Manikandan, N. A., Amulya, K., Dabros, M., Fahy, S., Kelleher, S. M., ... & Freeland, B. (2024). Brewer's spent grain as a self-sufficient feedstock for homofermentative production of optically pure L-lactic acid using *Lactobacillus rhamnosus*. *Environmental Technology & Innovation*, 34, 103582.
Pejin, J., Radosavljević, M., Mojović, L., Kocić-Tanackov, S., & Djukić-Vuković, A. (2015). The influence of calcium-carbonate and yeast extract addition on lactic acid fermentation of brewer's spent grain hydrolysate. *Food Research International*, 73, 31-37.

Radosavljević, M., Lević, S., Belović, M., Pejin, J., Djukić-Vuković, A., Mojović, L., & Nedović, V. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in Polyvinyl Alcohol for the production of L-(+)-Lactic Acid. *Process Biochemistry*, 100, 149-160.

Bernal-Ruiz, M., Correa-Lozano, A., Gomez-Sánchez, L., Quevedo-Hidalgo, B., Rojas-Pérez, L. C., García-Castillo, C., ... & Narváez-Rincón, P. C. (2021). Brewer's spent grain as substrate for enzyme and reducing sugar production using *Penicillium* sp. HC1. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 45(176), 850-863.

Nunes, L. F., Ugalde, G. A., Anschau, K. F., Müller, E. I., Tres, M. V., Zabet, G. L., & Kuhn, R. C. (2024). Clean Production of Sugars from Brewer's Spent Grains Using Subcritical Water Hydrolysis and Steam Explosion. *Sustainable Chemistry*, 5(4), 308-323

Marcus, A., & Fox, G. (2021). Fungal biovalorization of a brewing industry byproduct, brewer's spent grain: A review. *Foods*, 10(9), 2159.

Masiá, C., Geppel, A., Jensen, P. E., & Buldo, P. (2021). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on physicochemical properties of fermented plant-based raw materials. *Foods*, 10(3), 573.

Sun, F., Liu, S., Che, X., Wang, G., Wang, X., Li, Y., ... & Chen, H. (2024). High-Density Fermentation of *Lactobacillus plantarum* P6: Enhancing Cell Viability via Sodium Alginate Enrichment. *Foods*, 13(21), 3407.

Han, D., Bao, X., Wang, Y., Liao, X., Wang, K., Chen, J., ... & Wang, Y. (2024). The impact of lactic acid bacteria inoculation on the fermentation and metabolomic dynamics of indigenous Beijing douzhi microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1435834.

Yuan, J., Zhang, H., Zeng, C., Song, J., Mu, Y., & Kang, S. (2023). Impact of Fermentation Conditions on Physicochemical Properties, Antioxidant Activity, and Sensory Properties of Apple-Tomato Pulp. *Molecules*, 28(11), 4363.

Zhang, Z., Guo, S., Wu, T., Yang, Y., Yu, X., & Yao, S. (2022). Inoculum size of co-fermentative culture affects the sensory quality and volatile metabolome of fermented milk over storage. *Journal of Dairy Science*, 105(7), 5654-5668.

Murindangabo, Y. T., Kopecký, M., Perná, K., Nguyen, T. G., Konvalina, P., & Kavkova, M. (2023). Prominent use of lactic acid bacteria in soil-plant systems. *Applied Soil Ecology*, 189, 104955.

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.

Nimsi, K. A., Manjusha, K., Kathiresan, K., & Arya, H. (2023). Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2), 1xac088.

Singh, S., & Shyu, D. J. (2024). Perspective on utilization of *Bacillus* species as plant probiotics for different crops in adverse conditions. *AIMS microbiology*, 10(1), 220.

Yi, X., Ji, L., Hu, Z., Yang, X., Li, H., Jiang, Y., ... & Ruan, J. (2022). Organic amendments improved soil quality and reduced ecological risks of heavy metals in a long-term tea plantation field trial on an Alfisol. *Science of The Total Environment*, 838, 156017.

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.

Hei, J., Li, Y., Wang, Q., Wang, S., & He, X. (2024). Effects of exogenous organic acids on the soil metabolites and microbial communities of *Panax notoginseng* from the forest understory. *Agronomy*, 14(3), 601.

Li, J., Wang, J., Liu, H., Macdonald, C. A., & Singh, B. K. (2022). Application of microbial inoculants significantly enhances crop productivity: a meta-analysis of studies from 2010 to 2020. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 1(3), 216-225.

Herrmann, M. N., Wang, Y., Hartung, J., Hartmann, T., Zhang, W., Nkebiwe, P. M., ... & Yang, H. (2022). A global network meta-analysis of the promotion of crop growth, yield, and quality by bioeffectors. *Frontiers in Plant Science*, 13, 816438.

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.

Vyas, P., Sharma, S., & Gupta, J. (2022). Vermicomposting with microbial amendment: implications for bioremediation of industrial and agricultural waste. *BioTechnologia*, 103(2), 203-215.

Thapa, B., & Mowrer, J. (2022). Effects of carbon amendments, tillage and cover cropping on arbuscular mycorrhizal fungi association and root architecture in corn and cotton crop sequence. *Agronomy*, 12(9), 2185.

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.

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.

Lv, J., Gui, D., Zhang, Y., Li, R., Chen, X., & Sha, Z. (2024). Field application of microbial inoculants improved crop foliar morphology and physiology performance: A global meta-analysis. *Scientia Horticulturae*, 326, 112769.

Batista-Sánchez, D., Murillo-Amador, B., Ojeda-Silvera, C. M., Nieto-Garibay, A., Mazón-Suástegui, J. M., & López Corona, B. E. (2024). Actividad de un bioestimulante en la tasa fotosintética y contenido de clorofila de *Ocimum basilicum* L. sometida a estrés por NaCl. *Biotecnia*, 26.

Suzuki, T., Sakamoto, M., Kubo, H., Miyabe, Y., & Hiroshima, D. (2023). Effects of solar radiation on leaf development and yield of tuberous roots in multilayered sweet potato cultivation. *Plants*, 12(2), 287.

Verni, M., Pontonio, E., Krona, A., Jacob, S., Pinto, D., Rinaldi, F., ... & Rizzello, C. G. (2020). Bioprocessing of brewers' spent grain enhances its antioxidant activity: Characterization of phenolic compounds and bioactive peptides. *Frontiers in microbiology*, 11, 1831.

Cacace, C., Cocozza, C., Traversa, A., Coda, R., Rizzello, C. G., Pontonio, E., ... & Verni, M. (2022). Potential of native and bioprocessed brewers' spent grains as organic soil amendments. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 1010890.

Ren, Y., Wang, X., Li, Y., Li, Y. Y., & Wang, Q. (2022). Lactic acid production by fermentation of biomass: recent achievements and perspectives. *Sustainability*, 14(21), 14434.

Chandrasekaran, M., Paramasivan, M., & Sahayarayan, J. J. (2022). Microbial volatile organic compounds: An alternative for chemical fertilizers in sustainable agriculture development. *Microorganisms*, 11(1), 42.

Aquino-López, R., Castañeda-Hidalgo, E., Rodríguez-Ortiz, G., Santiago Martínez, G. M., & Lozano-Trejo, S. (2023). Calidad morfológica de la regeneración natural postincendio de *Pinus douglasiana* Martínez del Sur de Oaxaca. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 10(3).