

Uso y análisis químicos de distintos sustratos para el desarrollo de biomasa bacteriana



Use and chemical analysis of different substrates for the development of bacterial biomass

Sandra Gabriela Barrazueta Rojas.¹, Geovanny David Yáñez Tisalema.², Guillermo Xavier Mendoza Zurita.³, Mercedes Leticia Lara Freire.⁴

Recibido: 03-07-2019 / Revisado: 16-07-2019 / Aceptado: 11-08-2019/ Publicado: 10-09-2019

Abstract

DOI: <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v3i3.4..843>

In the Faculty of Animal Science at the Polytechnic School of Chimborazo, the effect of different substrates (molasses and whey) and culture conditions (agitation and static) were evaluated for the development of bacterial biomass of *Lactobacillus casei*, using ammonium phosphate as nitrogen source and a temperature of experimental of 34 – 36°C. The results were analyzed using mean separation according Friedman ($P < 0.05$). Setting the effect of the substrates and conditions on the specific growth rate, viability, biomass yield and indicator benefit/cost, being the treatment with stirring molasses (MA) which had the highest specific growth rate ($0,087\text{h}^{-1}$) however, the growth in this treatment was affected by limiting substrate (ammonium phosphate), which led to viable cell counts (6,66 Log CFU/ml) and biomass yields ($0,11\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) low, compared to treatment with whey agitation (LA), same that yielded the highest values of viability and biomass yield ($7,86\text{Log CFU/ml}$ y $0,26\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) with a specific growth rate of $0,052\text{h}^{-1}$, it is also the most cost – effective treatment as it recorder a beneficial/cost of 0,063 cents for every dollar invested. The results demonstrate the effectiveness of using whey as a substrate for the production of bacterial biomass and stirring condition as the ideal for the development of microorganisms

Keywords: Substrate, biomass, *Lactobacillus casei*.

¹ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Informática y Electrónica, Chimborazo, Ecuador, sbarazueta@esPOCH.edu.ec

² Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo, Ecuador, geo_ti@yahoo.es

³ Avícola Don Guillo, Chambo - Ecuador, guillomendoza01@yahoo.com

⁴ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Informática y Electrónica, Chimborazo, Ecuador, leticia.lara@esPOCH.edu.ec

Resumen

En la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se evaluó el efecto de distintos sustratos (melaza y lactosuero) y condiciones de cultivo (agitación y estático), para el desarrollo de biomasa bacteriana de *Lactobacillus casei*, utilizando fosfato de amonio como fuente de nitrógeno y una temperatura de experimentación de 34 – 36°C. Los resultados fueron analizados mediante separación de medias según Friedman ($P < 0,05$), Estableciendo el efecto de los sustratos y condiciones sobre la velocidad específica de crecimiento, viabilidad, rendimiento de biomasa e indicador beneficio/costo, siendo el tratamiento con melaza en agitación (MA) el que presentó la mayor velocidad específica de crecimiento ($0,087\text{h}^{-1}$), sin embargo, el crecimiento en este tratamiento se vio afectado por el sustrato limitante (fosfato de amonio), lo que condujo a recuentos de células viables ($6,66 \text{ Log UFC/ml}$) y rendimientos de biomasa ($0,11 \text{ g.g}^{-1}$) bajos, en comparación con el tratamiento con lactosuero en agitación (LA), mismo que permitió obtener los mayores valores de viabilidad y rendimiento de biomasa ($7,86 \text{ Log UFC/ml}$ y $0,26 \text{ g.g}^{-1}$) con una velocidad específica de crecimiento de $0,052 \text{ h}^{-1}$, además es el tratamiento más rentable ya que registró un beneficio/costo de 0,63 centavos por cada dólar invertido. Los resultados obtenidos demuestran la eficacia del uso del lactosuero como sustrato para la producción de biomasa bacteriana y la condición de agitación como la ideal para el desarrollo de los microorganismos.

Palabras clave: sustrato, biomasa. *Lactobacillus casei*.

Introducción.

Según la FAO (2002), los probióticos son “microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas”. Dentro de los microorganismos probióticos se encuentran los *Lactobacillus spp.*, los cuales son bacterias ácido lácticas (BAL) que se caracterizan por los diferentes usos e importancia a nivel industrial y, en ocasiones, utilizadas como fermentadores de alimentos cárnicos, lácteos y vegetales, además del uso en biopreservación, para incrementar la vida útil de los productos o como potencial probiótico en la industria (Silveira, M. *et al.*, 2003).

Jiménez, R.*et al.* (2009), manifiestan que la aplicación de los probióticos en el mejoramiento de la salud, conservación de alimentos y producción animal ha generado la necesidad de contar con los sustratos disponibles para su producción. Los medios tradicionalmente usados en el cultivo de biomasa probiótica son complejos, de costos elevados y difíciles de adquirir. La búsqueda de sustratos y condiciones de cultivo que permitan la obtención de altas densidades de microorganismos ($>10^6\text{UFC/ml}$), ha sido la meta de muchas empresas, que

están interesadas en las bacterias ácido lácticas, no sólo como microorganismos iniciadores, sino también como un ingrediente o aditivo probiótico para aumentar el valor nutritivo de sus productos.

La melaza de caña de azúcar en su composición presenta un 80% de azúcares principalmente sacarosa (Gilces, P. y Veloz, P., 2006), y el lactosuero dulce ofrece de 4,5 a 5% de lactosa (Chamorro, M y Losada, M., 2002); estos azúcares constituyen una fuente de carbono para muchos seres vivos.

Por todo lo señalado el objetivo de la presente investigación es utilizar melaza y lactosuero como sustrato principal para el desarrollo de biomasa bacteriana, suplementados con fosfato de amonio como fuente de nitrógeno, empleando *Lactobacillus casei* como inóculo de carácter probiótico y aplicando dos condiciones (agitación y estático), que favorezcan el crecimiento, viabilidad y rendimiento de biomasa del microorganismo.

Materiales y Métodos

Materia prima para elaboración de sustratos

- Lactosuero dulce
- Melaza de caña de azúcar
- Fosfato de amonio

Materia prima para recuento bacteriano

- Agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe).
- Cultivo comercial liofilizado de *Lactobacillus casei*

En esta investigación se preparó dos sustratos, uno a base de melaza y otro a base de lactosuero, cuyas formulaciones se detallan en el (tabla 1).

Tabla 1. Formulación de los sustratos a base de melaza y lactosuero.

COMPONENTE	FÓRMULA	
	PARA LA MELAZA	FÓRMULA PARA EL LACTOSUERO
Melaza (ml)	20 (8%)	-
Lactosuero (ml)	-	248 (99,2%)
Fosfato de amonio (NH ₄ H ₂ PO ₄) (gr)	2,5 (1%)	2 (0,8%)
Agua destilada (ml)	227,5 (91%)	-
TOTAL (ml)	250 (100%)	250 (100%)

- Cada formulación se preparó en matraces de 250 ml (biorreactores a escala de laboratorio), se inoculó con 0,05% (125 mg) de cepa de *L. casei*, y fueron incubadas a una temperatura de 34 – 36°C.
- Cada 24 horas se tomó 5 ml de muestra para realizar siembras, recuentos y evaluación de las variables de estudio.

Para la presente investigación se utilizó 12 litros de melaza y 12 litros de suero de leche, los mismos que fueron distribuidos en dos condiciones (agitación y estático) con 6 repeticiones. Los resultados experimentales fueron analizados por separación de medias mediante la prueba no paramétrica de Friedman ($P < 0,05$).

Resultados y Discusión

*Evaluación de la velocidad específica de crecimiento (μ) de *L. casei*, al usar distintos sustratos (melaza y lactosuero) y condiciones (agitación y estático) para el desarrollo de biomasa bacteriana*

Se evaluó la velocidad específica de crecimiento (μ) de *L. casei*, usando distintos sustratos (melaza y lactosuero) y condiciones (agitación y estático), considerando una temperatura de experimentación de 34-36 °C, éste rango es idóneo según Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A. (2010), quienes manifiestan que las bacterias ácido lácticas crecen adecuadamente bajo condiciones de temperatura entre 30 y 40°C, puesto que el consumo de los nutrientes del medio como azúcares, fósforo y nitratos se aprovechan más rápido a estas temperaturas. Todos los tratamientos estuvieron suplementados con fosfato de amonio (1% en la melaza y 0.8% en lactosuero), debido a que la concentración de compuestos de amonio (sulfato de amonio, fosfato de amonio, extracto de levadura, etc.) como fuente de nitrógeno en el medio de cultivo favorece el rendimiento de ácido láctico y la velocidad de formación de ácido láctico está directamente relacionada a la velocidad de crecimiento, por ende, combinado con la lactosa del lactosuero y azúcares de la melaza aporta al crecimiento del *L. casei* (García, C., 2013)

La velocidad específica de crecimiento de *L. casei*, frente a los tratamientos: LE, LA, ME y MA, desplegaron valores medios según la prueba no paramétrica de Friedman de: 0,026; 0,052; 0,020 y 0,087 h⁻¹; de los cuales el tratamiento LA (0,052h⁻¹) y MA (0,087h⁻¹), presentan diferencias altamente significativas entre ellos y con los demás tratamientos

($P < 0,01$), mientras que los tratamientos LE ($0,026 \text{ h}^{-1}$) y ME ($0,020 \text{ h}^{-1}$) comparten significancia entre ellos pero difieren significativamente del resto de tratamientos ($P < 0,01$), como reporta el (cuadro 2).

Los tratamientos en agitación presentaron los valores más altos de crecimiento bacteriano, observándose en la melaza un crecimiento 40% mayor al del lactosuero en la misma condición. Según Kazuhiko, T. y Kozo, T. (1995), la agitación incrementa la velocidad de transferencia de nutrientes del medio a las células, mejorando la homogenización de nutrientes y aumentando la velocidad de transferencia de productos metabólicos de las células hacia el medio, en contraste con los tratamientos que permanecieron en reposo (LE y ME), los cuales presentaron los valores más bajos debido a la ausencia de movimiento de los componentes nutricionales del medio, sobre todo la melaza estática cuya velocidad de crecimiento es menor en un 77% en relación a la melaza en agitación, de esta manera se afirmaría que en el presente trabajo la melaza tuvo una dependencia directa de la agitación para procurar el crecimiento de *L. casei* el cual realiza sus actividades metabólicas mejor en condiciones de agitación, aunque esto signifique, un mayor gasto de energía al usar agitadores o biorreactores con sistemas de agitación o centrifugación.

Tabla 2. Comportamiento de *L. casei* al usar distintos sustratos y condiciones para el desarrollo de biomasa bacteriana.

TRATAMIENTO			VARIABLES			
CÓDIGO	SUSTRATO	CONDICIÓN	velocidad	viabilidad	Rendimiento	PROB.
			especifica de crecimiento $\mu(\text{h}^{-1})$	(Log UFC/ml)	de biomasa Y (x/s)	
LE	LACTOSUERO	ESTATICO	0,026 _{cd}	7,30 _b	0,16 _b	0,0001
LA	LACTOSUERO	AGITACIÓN	0,052 _b	7,86 _a	0,26 _a	0,0001
ME	MELAZA	ESTATICO	0,020 _d	5,98 _d	0,013 _d	0,0001
MA	MELAZA	AGITACIÓN	0,087 _a	6,66 _c	0,11 _c	0,0001

Prob.: Probabilidad

Medias con una letra común en una misma columna no son significativamente diferentes según la Prueba de Friedman ($p < 0,01$)

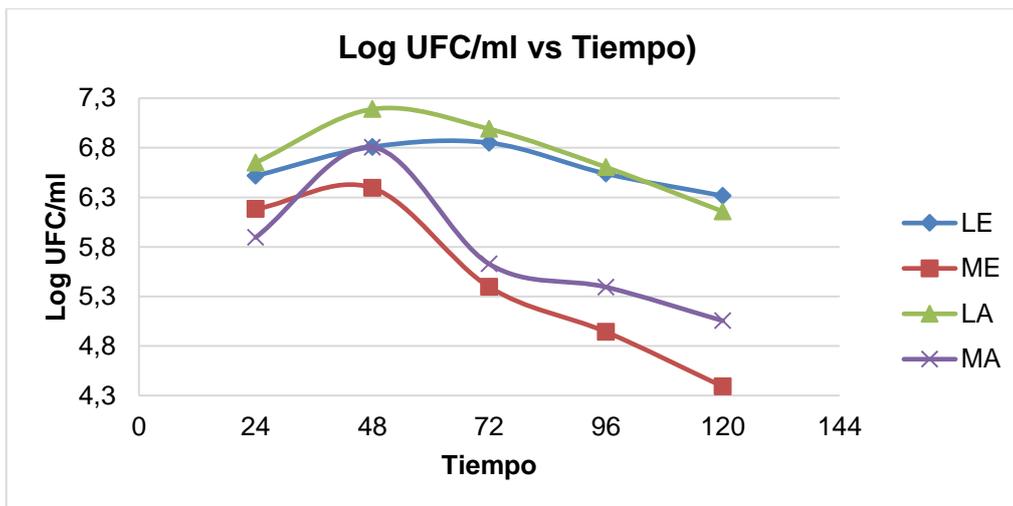


Figura 1. Curvas de crecimiento de *L. casei* en cada tratamiento

Tomando en cuenta el factor sustrato en los tratamientos empleados podemos establecer que los mismos presentan en su composición nutrientes que han sido aprovechados por las bacterias para mantener un buen crecimiento, como asegura García, C. (2013) quien menciona que la concentración de microorganismos se muestra influido con la velocidad con que aumenta la población bacteriana, la cual para un tipo de microorganismo depende principalmente de la composición y concentración del medio de sustrato, presencia de inhibidores, temperatura y pH; en base a esto se puede deducir que se obtuvo una buena velocidad de crecimiento en el tratamiento MA, en primer lugar, porque éste medio estaba formado principalmente por melaza en un 8%, cuyo principal componente es la sacarosa (60-63%) (Vaca, R., 2011), el mismo que sufre una transformación a monómeros de azúcar (glucosa y fructosa) por la enzima invertasa, que puede disminuir su actividad a concentraciones altas de sustrato, a determinadas temperaturas y Ph, permitiendo el aumento de la velocidad de crecimiento (Kazuhiko, T. y Kozo, T., 1995). La velocidad específica de crecimiento (μ), fue evaluada en la fase de crecimiento exponencial, la cual en la mayoría de los tratamientos se dio entre 24 y 48 horas de cultivo en los sustratos naturales para luego entrar en un declive progresivo de la curva de crecimiento bacteriano (gráfico 1), esta situación se dio principalmente en la melaza en agitación, debido a la baja concentración del sustrato melaza; lo que aceleró la muerte celular. El buen crecimiento en el tratamiento MA se hubiera mantenido al emplear mayores niveles de melaza, como lo hicieron Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A. (2010), al emplear diferentes niveles de melaza para crecimiento de bacterias probióticas, donde un 20% de melaza fue el mejor tratamiento para obtener

recuentos de hasta 10^9 UFC/ml. En cuanto al tratamiento LA, la velocidad de crecimiento fue un 40% menor que la MA, sin embargo, la muerte celular fue más lenta como se observa en la curva de crecimiento en el gráfico 1, esto puede atribuirse a la mayor disponibilidad de nutrientes en el lactosuero y sobre todo tomando en cuenta que el *L. casei*, por ser una bacteria ácido láctica, tiene la cualidad de fermentar la lactosa como sustrato preferencial (Jiménez, R. *et al.*, 2009). Otra característica que pudo influir en el buen crecimiento de *L. casei* en el lactosuero y su muerte tardía dentro del medio, fue la presencia de una mayor concentración de proteínas, puesto que para el lactosuero dulce se ha reportado una concentración de proteínas de 0,8-1,0 % de los sólidos totales (Chamorro, M y Losada, M., 2002).

El valor de velocidad específica de crecimiento de *L. casei* en el medio MA ($0,087 \text{ h}^{-1}$) arrojados en la presente investigación es superior a los reportados por Velásquez, J. *et al.* (2015), quienes obtuvieron un máximo valor experimental de velocidad específica de crecimiento de $0,061 \text{ h}^{-1}$. También el trabajo efectuado por León, D. *et al.* (2013), donde realizaron estudios cinéticos de crecimiento con diferentes formulaciones para la cepa de un lactobacilo probiótico aislado del pulque, determinándose los mejores resultados de $\mu = 0,056 \text{ h}^{-1}$ y $0,042 \text{ h}^{-1}$.

*Evaluación de la viabilidad de *L. casei* (log ufc/ml), al usar distintos sustratos (melaza y lactosuero) y condiciones (agitación y estático) para el desarrollo de biomasa bacteriana*

El recuento de células viables (Log UFC/ml) de *L. casei*, frente a los diferentes tratamientos presentaron valores medios de acuerdo a la prueba no paramétrica de Friedman de: 7,30; 7,86; 5,98 y 6,66 log UFC/ml; como lo ilustra el gráfico 2, mismos que presentan diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) entre todos los tratamientos. Estas medias corresponden a los máximos recuentos alcanzados por el microorganismo durante su crecimiento dentro de los medios de cultivo enriquecidos con los sustratos en estudio.

Los tratamientos en estado de agitación presentaron los recuentos más altos de células viables, siendo el tratamiento LA, el que tuvo recuentos cercanos a 10^8 UFC/ml, ya que como se mencionó anteriormente, la agitación permite distribuir los nutrientes por todo el medio, lo que facilita su consumo por parte de las bacterias, con el consecuente mantenimiento de células vivas durante el proceso fermentativo de la melaza y lactosuero.

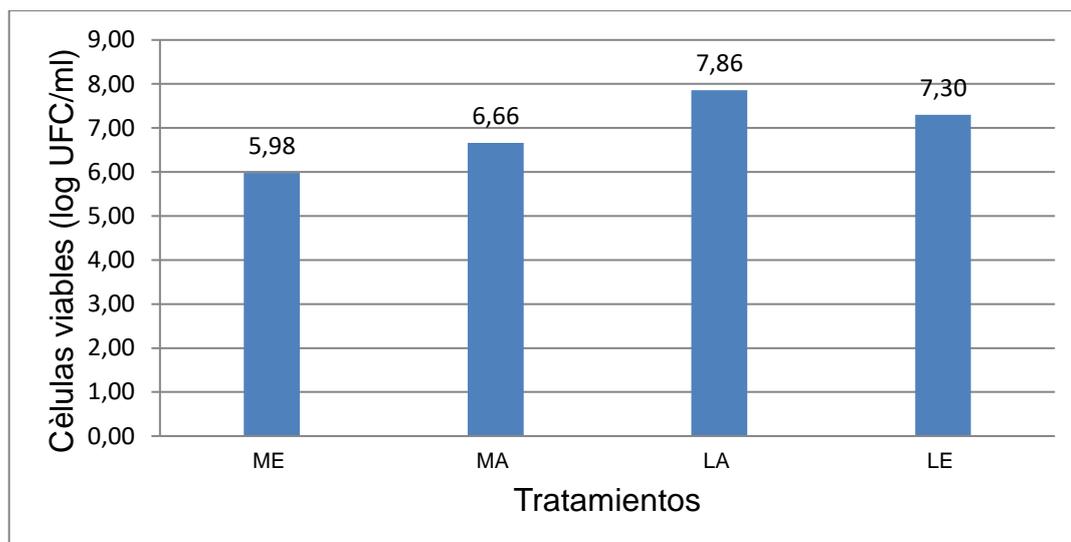


Figura 2: Viabilidad de *L. casei*, frente a los distintos tratamientos: lactosuero estático (LE), lactosuero en agitación (LA), melaza estática (ME) y melaza en agitación (MA).

Para garantizar recuentos viables satisfactorios, se añadió a los cultivos fosfato de amonio como fuente de nitrógeno y se controló la temperatura (34 – 36°C), sin embargo, en este parámetro existen otros factores que influyen como el incremento en la acidez del medio durante el proceso fermentativo, el peróxido de hidrógeno producido por algunos lactobacilos, la composición de los sustratos, el antagonismo entre los microorganismos por la producción de sustancias antimicrobianas, que hacen posible el descenso en el recuento de los microorganismos (Londoño, M. *et al.*, 2008),.. La melaza y el lactosuero fueron sometidos a un proceso de esterilización en una autoclave a 120 °C por 45 minutos (Aguirre, E. *et al.*, 2010) antes de la inoculación, para garantizar la ausencia de microorganismos para que no exista antagonismo ni producción de sustancias antimicrobianas.

La presencia de lactosa y proteínas en el lactosuero hace que las bacterias se mantengan vivas por más tiempo, y la muerte celular también está ligada al agotamiento o disminución de uno de los nutrientes; situación que se evidenció en nuestro trabajo, puesto que los recuentos en LA se mantuvieron similares durante todas las fases de crecimiento bacteriano (gráfico 1). La melaza estática arrojó la menor viabilidad, en un 24% menor con respecto a LA, esto puede ser debido a la baja concentración de azúcares en el medio, situación que se puede corroborar con Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A. (2010), quienes evaluaron el crecimiento de *L. plantarum* con diferentes concentraciones de melaza en agitación, donde

observaron recuentos viables de 10^9 UFC/ml en 20% y 25% y se obtuvo recuentos más bajos de 10^6 y 10^7 UFC/ml, con las demás concentraciones (5%, 10%, 30%), comparado con la concentración de melaza empleada en el presente trabajo (8%), es bastante bajo y en consecuencia la producción de biomasa se ve limitada por deficiencia de fuentes de carbono y la falta de agitación; en contraste, se tuvo buen crecimiento (μ) en el tratamiento ME, debido a que las bacterias aprovecharon los nutrientes presentes, pero al escasearse la fuente de carbono entraron rápidamente a la fase de latencia y muerte escaseándose la producción de biomasa. El exceso o deficiencia de sustrato puede influir en los bajos recuentos celulares (Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A., 2010),

Se han realizado trabajos similares para evaluar la viabilidad de varias cepas probióticas, como el desarrollado por Pérez, H y Hernández, M (2015), donde evaluaron las potencialidades del uso de sustratos a partir de jugo de Aloe vera (sábila) y coproductos azucareros (glucosa y melaza) para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* LB/103-1-5 y obtuvieron una viabilidad superior a 9,0 log UFC/ml. Se Obtuvieron recuentos de células viables de 10^8 , 10^9 y 10^{10} UFC/ml en muestras tomadas a las 72 horas en estudios realizados por Velásquez, J., Giraldo, G., y Padilla, L. (2012), en el que evaluaron la viabilidad de *lactobacillus casei ssp casei* ATCC 393 cultivado en suero de leche clarificado en un proceso de fermentación discontinuo. Pese a que los datos reportados por estos trabajos están por encima de los presentados en la presente investigación, Aguirre, E. *et al.* (2010), recomiendan que la viabilidad debe ser mayor a 6,0 Log UFC/ml para que el microorganismo pueda ser empleados como cultivo probiótico, en base a lo mencionado se podría deducir que el tratamiento LA con 7,86 Log UFC/ml, se encuentra dentro de estos parámetros, de esta manera los microorganismos cultivados en estos medios pueden emplearse como bacterias probióticas en el desarrollo de alimentos funcionales donde la supervivencia de la cepa de *L. casei* y, por tanto, la vida útil del producto, dependerán entre otros factores, del contenido de ácido (alrededor de 0,65% de ácido láctico) y de una temperatura de conservación menor de 5°C (Tamime, A., Marshall, M. y Robinson, R.,1995)

Evaluación del rendimiento de biomasa y(x/s) de l. casei al usar distintos sustratos (melaza y lactosuero) y condiciones (agitación y estático) para el desarrollo de biomasa bacteriana

El rendimiento de biomasa probiótica $Y_{x/s}$ de *L. casei*, frente a los distintos tratamientos: lactosuero estático (LE), lactosuero en agitación (LA), melaza estático (ME) y melaza en

agitación (MA), presentaron valores medios de rendimiento, según la prueba no paramétrica de Friedman de: 0,16; 0,26; 0,013; y 0,11 $Y_{x/s}$ (g de biomasa/g de sustrato) ; como lo ilustra el gráfico 3, mismos que difieren significativamente ($P < 0,01$) entre todos los tratamientos. El lactosuero en agitación tuvo el mejor comportamiento en cuanto a rendimiento de biomasa ($0,26 \text{ g.g}^{-1}$), nuevamente queda demostrado la importancia de la agitación para el desarrollo favorable de las bacterias lo cual contribuye a la producción de mayores densidades de biomasa, no sólo por la dispersión de nutrientes, sino porque favorece la correcta oxigenación del medio, ayuda a homogenizar las condiciones de temperatura y pH, la dispersión de líquidos inmiscibles y la suspensión de sólidos (Kazuhiko, T. y Kozo, T., 1995). Un factor que afecta a la producción de biomasa es la viscosidad (medida de la capacidad que un material tiene para fluir) del medio y que Según Galindo, E., Peña, C. Y Serrano, L. (2007), la viscosidad de los cultivos microbianos se ve afectada por la composición del medio (sólidos solubles), del tipo de microorganismo (hongos filamentosos, bacterias productoras de antibióticos, bacterias ácido lácticas, etc.) y de los metabolitos que producen ciertos hongos o bacterias (polímeros, goma xantán, etc.), que constituye una dificultad técnica al momento de cultivar microorganismos en un medio adecuado; éste factor se puede controlar al adicionar agitación al fluido ya que este movimiento físico permite disminuir la viscosidad del medio. En la presente investigación, sin embargo, podemos observar que el mayor componente de los caldos de cultivo es el agua, que tiene baja viscosidad, pero supondría un problema cuando se incrementen los niveles de melaza en agitación ya que posee una alta viscosidad (500 – 2700 centipoise a 30°C) en relación al lactosuero.

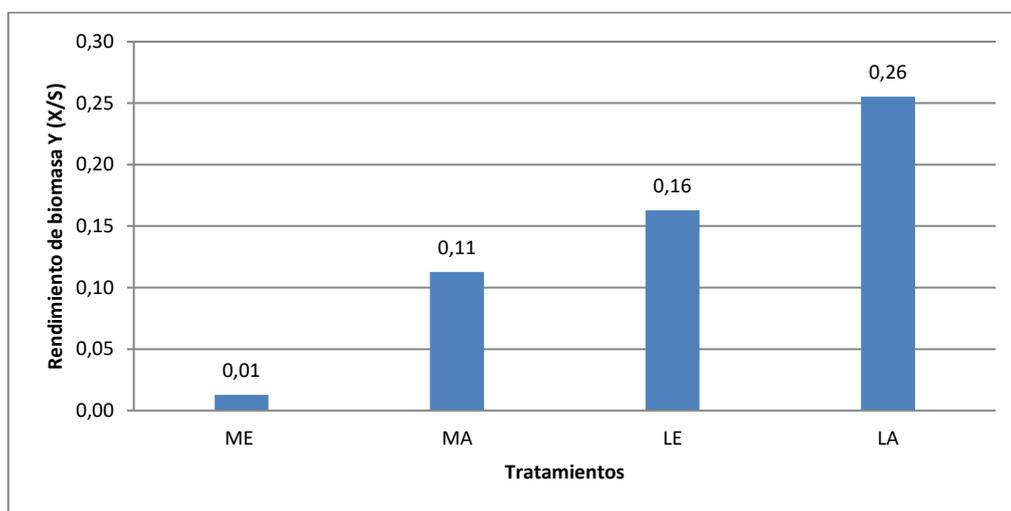


Figura 3: Rendimiento de biomasa (g de biomasa/g de sustrato), de *L. casei*, frente a los distintos tratamientos: lactosuero estático (LE), lactosuero en agitación (LA), melaza estática (ME) y melaza en agitación (MA).

Galindo, E., Peña, C. Y Serrano, L. (2007), también nos mencionan que para optimizar los rendimientos de biomasa se debe lograr que todo (o la mayoría) del volumen del caldo de

fermentación se encuentre bien mezclado puesto que si no mezclamos bien el líquido existirán zonas “muertas” (de poca o nula agitación), lo que conducirá a un menor rendimiento y lo recomendable para tener una eficiente agitación en biorreactores es el uso de impulsores de diámetro grande (aunque de giro lento) antes que los pequeños (de giro rápido), que son lo que se usan en la mayor parte de los procesos de fermentación industrial.

En definitiva, las células dentro de un biorreactor pueden tener diferentes comportamientos, tanto en su morfología como en su fisiología, dependiendo de las condiciones hidrodinámicas en las cuales se cultiven, es así que Bustamante, *et al.* (2014), concluyeron que la agitación fue un parámetro importante para obtener una producción de biomasa de 4,5 g/La 43°C.

La presencia de fosfato de amonio añadido en los medios es un factor que se debe tomar en cuenta ya que según García, C. (2013), quien observó un aumento en la producción de biomasa al suplementar los medios con fosfato de amonio y lactosa, pero el exceso o deficiencia de estos afectaba a los rendimientos de biomasa; el empleo de lactosa como una fuente extra de carbono es favorable cuando el objetivo es obtener buen crecimiento bacteriano pero no cuando se requiere obtener ácido láctico, por lo que se rescata la importancia de utilizar fuentes de nitrógeno y carbono de manera equilibrada (para la producción de biomasa o ácido láctico). En la presente investigación no se utilizó fuentes adicionales de carbono ya que sólo se consideró las ya presentes en los sustratos naturales, pero se equilibró con fosfato de amonio (0,8% en el lactosuero y 1 % en la melaza); observando así que hay productividad con menores concentraciones de fosfato de amonio, por lo que se sugiere que el lactosuero y la melaza son capaces de permitir el crecimiento bacteriano por sí solos. En los medios LA y LE el incremento de biomasa está asociado al consumo de lactosa, por lo tanto, se puede concluir la concentración celular tiene una relación directamente proporcional a la producción de ácido láctico, mostrando un comportamiento típico de este tipo de metabolito primario asociado al crecimiento microbiano.

Los coeficientes de rendimiento de biomasa bacteriana $Y_{x/s}$ obtenidos en la presente investigación (0,16 - 0,26 g.g⁻¹), son similares a los obtenidos por García, C. (2013) con un rendimiento de 0,15 - 0,25; donde cultivó *L. casei* en lactosuero suplementado con lactosa y sulfato de amonio, también Aguirre, E. *et al.* (2010), reportaron un valor global promedio de rendimiento de biomasa $Y_{x/s}$ de *L. casei* que sitúa en 0.0990 y 0.1060 (g.g⁻¹) al usar suero de leche de cabra clarificado como fuente de carbono

Valoración económica

Todos los costos de producción se proyectaron para un año, con una capacidad de producción de la planta de 150 g de biomasa probiótica de *L. casei* al día, a una escala piloto de 50 litros de medio de cultivo o sustrato. Los valores que abarcan los costos de producción y el beneficio - costo de cada tratamiento se puede observar en el (cuadro 3).

Tabla 3: Análisis Económico.

CONCEPTO	Unid.	Cantidad	C. U.	LA	LE	MA	ME
MATERIALES							
DIRECTOS	\$			4714,82	4714,82	32187,71	32187,71
MANO DE OBRA							
DIRECTA	Jornal	2,00	6206,63	12413,26	12413,26	12413,26	12413,26
COSTOS							
INDIRECTOS DE PRODUCCION	\$			22283,95	22283,95	22283,95	22283,95
EGRESOS							
TOTALES	\$			39412,03	39412,03	66884,91	66884,91
Beneficio/Costo	B/C			1,630	1,009	0,379	0,314

Conclusiones

- La mayor velocidad específica de crecimiento (μ) de *L. casei* se registró en la melaza y lactosuero en condición de agitación (MA= 0,087 y LA= 0,026 h⁻¹), evidenciando que la agitación es la mejor condición para el crecimiento de *L. casei*; y que los microorganismos realizan sus actividades metabólicas dentro de estos medios de cultivo a base de sustratos naturales, con cantidades mínimas de fosfato de amonio y con temperatura controlada entre 34-36 °C.
- El uso de lactosuero como sustrato para el desarrollo de microorganismos probióticos, influenciado directamente por la agitación, fue el mejor tratamiento para obtener recuentos de células viables mayores a 10⁶ UFC/ml; el cual se encuentra dentro de los parámetros establecidos para considerar al microorganismo (*L. casei*) como probiótico.
- El mejor resultado en cuanto a rendimiento de biomasa $Y_{x/s}$ de *L. casei*, se obtuvo con el medio a base de lactosuero y en agitación de 0,26 g.g⁻¹ y a la vez registró la mayor producción de biomasa de 2,5 g/Lt, comprobándose una vez más que el tratamiento LA, es el más idóneo para obtener biomasa bacteriana.
- En cuanto al análisis económico, se obtuvo un beneficio costo de 1,63 en el tratamiento lactosuero en agitación; que significa que por cada dólar invertido se tiene una utilidad de 0,63 centavos de dólar, lo que indica que producir biomasa bacteriana con este tratamiento podría ser una actividad rentable.

Referencias Bibliográficas

1. AGUIRRE, E., AGUILAR, J., RAMÍREZ, A., Y ÁLVAREZ, M. (2010). Producción de Proteína y Biomasa Probiótica De *Lactobacillus casei*. Liofilizadas a partir de Suero de Leche De Cabra. Monterrey-México.
2. CHAMORRO, M., Y LOSADA, M. (2002). El Análisis Sensorial de los Quesos. pp 32,36
3. FAO. (2002). Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico. Informe. Córdoba, Argentina, 1- 4 de octubre de 2001. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s/a0512s00.pdf>
4. GALINDO, E., PEÑA, C. Y SERRANO, L. (2007). Domesticar microorganismos en un biorreactor: los retos del bioingeniero. México. Disponible en: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_12.pdf
5. GARCÍA, C. (2013). PRODUCCIÓN DE ACIDO L (+) LÁCTICO A PARTIR DE LACTOSUERO UTILIZANDO *Lactobacillus casei* EN UN CULTIVO BATCH. MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS. Universidad de Córdoba. Facultad de Ingenierías. Córdoba-Argentina. Disponible en: http://www.unicordoba.edu.co/images/2_PRODUCCION_DE_ACIDO_L__LACTICO_A_PARTIR_DE_LACTOSUERO_UTILIZANDO_Lactobacillus_casei_EN_UN_CULTIVO_BATCH.pdf; y en <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a17.pdf>
6. GILCES, P. Y VELOZ, P. (2006). Estudio del uso de los nutrientes para la levadura en fermentación con el propósito de mejorar la producción del alcohol etílico. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química. Guayaquil, Ecuador. PP 18
7. JIMÉNEZ, R., MAGANA, A., GONZÁLEZ, N., CHAB, C. Y ZETINA, Z. (2009). Fuentes Agrícolas y suero de queso como sustratos para la producción de Biomasa Probiótica. Tabasco-México.
8. KAZUHIKO, T.; KOZO, T. 1995. Factors affecting the ethanol productivity of yeast in molasses. J. Ferment. Bioeng. 79(5):449-452.

9. LEÓN, D. *et al.* (2013). Formulación y optimización de un medio de cultivo económico para *Lactobacillus* con potencial probiótico aislado del pulque. Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Simón Bolívar, México.
10. LONDOÑO, M., SEPÚLVEDA, J., HERNÁNDEZ, A., PARRA, J. (2008). BEBIDA FERMENTADA DE SUERO DE QUESO FRESCO INOCULADA CON *Lactobacillus casei*. Medellín-Colombia. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/27038/1/24741-86799-1-PB.pdf>
11. OSSA, J., VANEGAS, M. Y BADILLO, A. (2010). EVALUACIÓN DE LA MELAZA DE CAÑA COMO SUSTRATO PARA EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus plantarum*. Universidad de los andes. Bogotá-Cundinamarca, Colombia.
12. PÉREZ, H Y HERNÁNDEZ, M (2015). Evaluación de sustratos con jugo de aloe vera para el crecimiento de *lactobacillus plantarum*. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v35n2/rtq03215.pdf>
13. SILVEIRA, M., MONEREO, S. Y MOLINA, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos? Rev. Española de Salud Pública.
14. TAMIME, A., MARSHALL, M. Y ROBINSON, R. (1995). Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria.
15. VACA, R. (2011) “PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO MEDIANTE EL USO DE *Lactobacillus rhamnosus* A PARTIR DE MELAZA”. Ambato, Ecuador. pp 28, 29, 30.
16. VELÁSQUEZ, J. *et al.* (2015) CRECIMIENTO DE *Lactobacillus casei ssp casei* ATCC 393 EN SUERO CLARIFICADO
17. VELÁSQUEZ, J., GIRALDO, G., Y PADILLA, L. (2012). VIABILIDAD DE *Lactobacillus casei ssp casei* ATCC 393 CULTIVADO EN SUERO DE LECHE CLARIFICADO EN UN PROCESO DE FERMENTACIÓN DISCONTINUO. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

PARA CITAR EL ARTÍCULO INDEXADO.

Barrazueta Rojas, S., Yáñez Tisalema, G., Mendoza Zurita, G., & Lara Freire, M. L. (2019). Uso y análisis químicos de distintos sustratos para el desarrollo de biomasa bacteriana. *Ciencia Digital*, 3(3.4.), 152-166. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v3i3.4.843>



El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la Revista Ciencia Digital.

El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Ciencia Digital**.

