



# Evaluación de mesófilos de lactosuero con actividad ácido láctica en medio con *Canna indica* L

Dania Fonseca-López<sup>1\*</sup> ; Lily Monroy-Fonseca<sup>2</sup> ; Carlos-Eduardo Rodríguez-Molano<sup>1</sup> .

<sup>1</sup>Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Grupo de investigación GIBNA. Tunja, Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Escuela de Ciencias Químicas. Tunja, Colombia.

\*Correspondencia: [danialfonseca@uptc.edu.co](mailto:danialfonseca@uptc.edu.co)

Recibido: Agosto 2021; Aceptado: Julio 2022; Publicado: Septiembre 2022.

## RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar lactosuero como fuente de mesófilos con actividad ácido láctica en medio de cultivo complejo con almidón de sagú (*Canna indica* L.). **Materiales y métodos.** Se analizaron tres medios de cultivo para bacterias mesófilas de lactosuero diferenciados por la inclusión de almidón de sagú (*Canna indica* L.) (0, 0.5 y 1%). Los tratamientos control fueron suero refrigerado (-4°C) y sin refrigerar (18°C). Se evaluó el crecimiento de mesófilos, pH, nivel de acidez, y sólidos solubles totales con intervalos de 24 h durante 5 días; y concentración de ácido láctico al finalizar el ensayo. **Resultados.** El pH y los sólidos solubles totales (°Brix) disminuyeron en todos los tratamientos, el porcentaje de acidez aumentó con el tiempo y al finalizar el ensayo el mayor contenido de ácido láctico fue de 32.5 y 37.2 g/L para las formulaciones con 0.5 y 1% de almidón de sagú respectivamente. El crecimiento de mesófilos fue bajo en la formulación con 1% de almidón y alto en el suero sin refrigerar. **Conclusiones.** El lactosuero es una buena fuente de mesófilos con actividad ácido láctica lográndose hasta 37.2 g/L de ácido láctico en medio de cultivo complejo con inclusión de 1% de almidón de sagú.

**Palabras clave:** Almidón; bacterias ácido lácticas; conteo bacteriano; crecimiento microbiano; medio de cultivo; suero de leche (*Fuentes: MeSH, NLM, CAB*).

## ABSTRACT

**Objective.** Evaluate lacto-serum as a source of mesophils with lactic acid activity in complex culture medium with sago starch (*Canna indica* L.). **Materials and methods.** Three culture media were analyzed for mesophilic lacto-serum bacteria differentiated by the inclusion of sago starch (*Canna indica* L.) (0, 0.5 and 1%). Control treatments were refrigerated (-4°C) and non-refrigerated (18°C) lacto-serum. Mesophilic growth, pH, acidity level, and total soluble solids were evaluated at 24 h intervals for 5 days; and lactic acid concentration at the end of the test. **Results.** The pH and total soluble solids (°Brix) decreased in all treatments, the % acidity increased over time and at the end of the trial the highest content of lactic acid was 32.5 and 37.2 g/L for the formulations with 0.5 and

### Como citar (Vancouver).

Fonseca-López D, Monroy-Fonseca L, Rodríguez-Molano CE. Evaluación de mesófilos de lactosuero con actividad ácido láctica en medio con *Canna indica* L. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(3):e2440. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2440>



©El (los) autor (es) 2022. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

1% sago starch respectively. Mesophilic growth was low in the 1% starch formulation and high in the non-refrigerated serum. **Conclusions.** Lacto-serum is a good source of mesophiles with lactic acid activity, reaching up to 37.2 g/L lactic acid in complex culture medium including 1% sago starch.

**Keywords:** Starch; Lactic acid bacteria; bacterial counting; microbial growth; culture media; whey (Sources: MeSH, NLM, CAB).

## INTRODUCCIÓN

Bacterias ácido lácticas (BAL) se han encontrado en el lactosuero obtenido luego de la fabricación del queso, esto, ha impulsado la investigación de dichos microorganismos nativos debido a que el ácido láctico es comúnmente utilizado en la industria alimentaria (Aditivo) y química (Solubilizador)(1). El aprovechamiento de BAL a partir de su masificación en medios de cultivo que incluyan en su formulación fuentes o componentes nutricionales donde se desarrollan naturalmente, podrían, reducir los costos de producción de inoculantes, incrementar el crecimiento bacteriano, la producción de ácido láctico durante la fermentación y favorecer el desarrollo de microorganismos que no son cultivables en condiciones de laboratorio, por la adaptación metabólica de las bacterias a las características físicas y químicas del medio. Por esto, los últimos hallazgos sugieren que la masificación de los microorganismos nativos se debe realizar simulando las condiciones naturales donde permanecen las poblaciones bacterianas (2).

Pese a ser escasas las investigaciones donde se evalúan medios de cultivo complejos formulados con lactosuero para la producción de ácido láctico a partir de la masificación de BAL nativas, se reportan medios que incluyen fuentes de carbono con composición no definida, como la inulina de achicoria (*Cichorium intybus* L.), inulina de agave (*Agave* spp.) y albedo de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) (1). También se ha utilizado jugo de naranja (*Citrus sinensis*), pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.), pulpa de noni (*Morinda citrifolia* L.) y leche en polvo en la formulación de medios complejos para BAL (3). Otras fuentes de carbono que se han utilizado en la masificación de microorganismos con potencial industrial son la melaza (4), cáscara y jugo de naranja (5) y remolacha azucarera (6), que suelen contener azúcares como la sacarosa, glucosa y fructosa.

El lactosuero además de ser fuente natural de BAL corresponde a un medio líquido que aporta aminoácidos y carbono en forma de lactosa principalmente (7), por lo tanto, es un subproducto industrial que puede ser utilizado para la formulación de medios de cultivo

bacteriano a bajo costo por su alta producción, aproximadamente 9 kg de lactosuero se obtienen por 1 kg de queso fabricado, es decir entre el 80-90% del volumen de leche utilizada (8,9).

En Colombia, la sobreoferta de este subproducto y la baja demanda por falta de procesos de transformación y tecnología para la elaboración de productos especializados, obligan al productor a desecharlo, lo que repercute en la contaminación de suelos y de fuentes hídricas por el aporte excesivo de bases, pH ácido, y alta tasa de degradabilidad (7). Dentro de los principales avances en el uso del lactosuero se reportan la obtención de concentrado de proteína (9,10), de péptidos bioactivos con función antimicrobiana, antioxidante y antihipertensiva (7), producción de etanol (11), de vitaminas, surfactantes, enzimas, antibióticos y polisacáridos (12,13).

Pero, pese a los avances tecnológicos, la mayor limitante corresponde al alto costo y baja adaptación de las tecnologías en sistemas tradicionales de granja. Por ello, es necesario ampliar la investigación relacionada con el aprovechamiento del lactosuero con aplicaciones que puedan ser replicadas en campo como, por ejemplo, el desarrollo de inoculantes en medios de cultivo complejos formulados con insumos que se encuentren en las fincas, como el sagú (*Canna indica* L.), una planta rústica y de amplia distribución mundial de la que se puede extraer almidón que tolera medios ácidos (14,15). La evaluación de medios de cultivo con materiales no convencionales que son fuentes naturales de poblaciones microbianas con aplicación industrial permite funcionalizar productos considerados desechos y aprovechar bacterias promisorias. Por ello, el objetivo del trabajo fue evaluar el lactosuero como fuente de mesófilos con actividad ácido láctica en medio de cultivo complejo con almidón de sagú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Obtención del lactosuero y formulación de medio de cultivo.** El lactosuero utilizado fue suministrado por productores de queso campesino de Colombia región andina departamento Boyacá de fincas especializadas en ganadería lechera. Se tomaron 15 submuestras de 100 mL de

lactosuero (con menos de 1 h de extracción) en frascos ambar y se transportaron en condiciones de refrigeración (-4°C) y protegidas de luz directa hasta el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia sede en Tunja coordenadas 5°55'56" N y 73°35'49" W situado a una altura de 3000 msnm. Las muestras se filtraron para eliminar residuos de queso, y se mezclaron en una única muestra que se repartió en vasos de precipitado de 500 mL que tenían los siguientes componentes: CaHPO<sub>4</sub>, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, melaza, y almidón del tubérculo de sagú (*Canna indica* L.) extraído por rayado (15) que se incorporó en tres niveles alto (1%), medio (0.5%) y bajo (0%). Los controles fueron suero refrigerado (C1) (4°C) y sin refrigerar (C2) (18°C) (Tabla 1). Los medios de cultivo se llevaron a incubación a temperatura ambiente (18°C) sin agitación en cámara de incubación durante 5 días para simular condiciones de campo, no se inocularon aislados externos.

**Tabla 1.** Formulaciones de medios de cultivo bacteriano con diferente fuente de carbono en base húmeda.

Componente (%)	C1	C2	0	0.5	1
Suero	100	100	99.5	94	93.5
Sagú	0	0	0	0.5	1
CaCO <sub>3</sub>	0	0	0.3	0.3	0.3
CaHPO <sub>4</sub>	0	0	0.2	0.2	0.2
Melaza	0	0	5	5	5

C1: suero refrigerado (4°C), C2: suero sin refrigerar (18°C), 0: nivel bajo con 0% de almidón de sagú, 0.5: nivel medio con 0.5% de almidón de sagú, 1: nivel alto con 1% de almidón de sagú

**Composición química de las fuentes de carbono y medios de cultivo.** Los análisis se realizaron en base seca, para ello, muestras líquidas fueron secadas por convección forzada a 40°C antes de realizar el análisis composicional. La digestibilidad de la proteína se determinó por método in vitro (16), el contenido de materia seca (MS) con estufa de secado a 60°C y contenido de humedad (H) por diferencia (17); cenizas (Cen) por método de incineración (18), extracto etéreo por el método Soxhlet, proteína por Kjeldahl, azúcares reductores y azúcares no reductores por la prueba cuantitativa de Benedict (19), sólidos solubles totales (20), y presencia de azúcares por el método de Molisch Felling y Selivanoff en tubos de ensayo (21,22).

Para el test de Molisch se mezclaron 2 mL de la solución desconocida (1g de muestra en 50 mL de agua destilada) con 2 gotas de reactivo de Molisch y se dejó reaccionar durante 30 min. En el test de Fehling se mezclaron 6 gotas de reactivo de Fehling y 1 mL de la solución desconocida y posteriormente los tubos de ensayo se colocaron en agua en ebullición durante 30 min. Para la prueba de Sellivanoff se agregó 1 mL de muestra desconocida con 5 mL de reactivo de Sellivanoff y se dejó en reposo durante el mismo tiempo, y en la prueba de Benedict se utilizó 1 mL de reactivo con 5 mL de solución desconocida, luego se hizo evaluación de las coloraciones conforme se describe en la tabla 2 para interpretar los resultados.

**Tabla 2.** Evaluación de las reacciones Fehling, Molisch y Sellivanoff.

Prueba	Observación	Interpretación
Molisch	Se forma un anillo violeta entre la fase de separación de los líquidos	Positivo para la presencia de carbohidratos
Fehling	Se forma un precipitado rojo en la solución	Reducción del azúcar presente
Sellivanoff	Solución con coloración rojiza	Presencia de cetoheptosas y aldopentosas
Benedict	Se forma precipitado con coloración roja o amarilla	Positivo para la presencia de carbohidratos reductores

Adaptado de Pawar (22)

**Crecimiento de mesófilos.** Se evaluó el crecimiento de bacterias nativas del lactosuero, para ello, se diluyó 1 mL de cada muestra hasta 10<sup>-9</sup> en solución salina 0.8%, y se sembraron en *Compact Dry* para aerobios mesófilos®, tres replicas por tratamiento. El seguimiento se realizó a partir de las 0 h y con intervalos de 24 h durante 5 días. Las placas se incubaron a 37°C por 48 h y posteriormente se hizo el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) (22,23).

**Concentración de ácido láctico.** Para determinar la concentración de ácido láctico total al final del ensayo se utilizó test ácido láctico Reflectoquant® (Supelco, USA). Para ello, las muestras líquidas se diluyeron en agua destilada (1:100) y se sumergió una tira de ensayo que posteriormente fue colocada en la zona de lectura del equipo.

**Variación del pH y la acidez.** La acidez de los tratamientos se obtuvo por titulación con NaOH, y se usó fenolftaleína como indicador, luego, con la siguiente fórmula se estimó el porcentaje de acidez del ácido láctico (24).

$$\% \text{ Acidez} = (V \text{ NaOH} \times \text{NaOH}) \times (\text{PM}_{\text{ácido}} / (\text{valencia} \times 1000)) / A \times 100$$

PM<sub>ácido</sub> = peso molecular del ácido

A = alícuota de la muestra en mL

NaOH = concentración del NaOH

Mientras que el pH se evaluó con un potenciómetro OAKTON® (OAKTON Instruments, Vernon Hills, IL, USA) que se calibró antes de cada medición (18). Estos análisis se realizaron con intervalos de 24 h durante 5 días.

**Contenido de sólidos solubles totales (°Brix).** Se usó un refractómetro MA887® (Milwaukee Instruments, USA) y se analizaron muestras de 25 mL en un matraz de erlenmeyer, tres replicas por tratamiento. Las mediciones se realizaron con intervalos de 24 h durante 5 días.

**Análisis estadístico y diseño experimental.** Se evaluaron cinco tratamientos, correspondientes a las formulaciones con suero de leche y dos controles, cada una con 3 réplicas en un diseño

completamente al azar; cada repetición se trató como unidad experimental. Los datos se organizaron en una tabla excel y a partir de los promedios obtenidos se realizaron las gráficas, se determinó el modelo estadístico de mayor ajuste para las variables pH y crecimiento microbiano. También se hizo análisis de varianza (ANDEVA) y se aplicó la prueba de Tukey donde hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con el software estadístico SPSS Statistics.

## RESULTADOS

**Composición química de las fuentes de carbono y medios de cultivo.** A continuación, se muestran los resultados de la composición química del almidón de sagú, suero de leche, melaza y de los medios de cultivo (Tabla 3).

**Crecimiento de mesófilos.** El contenido inicial de UFC de mesófilos en el lactosuero estuvo entre  $123 \pm 10$  y  $302.6 \pm 8.19$ . El crecimiento bacteriano difirió durante el tiempo entre formulaciones con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Al finalizar el ensayo el mayor valor de UFC se observó en el suero sin refrigerar (C2) y el menor crecimiento se obtuvo en la formulación con 1% de almidón de sagú. En todos los medios de cultivo el crecimiento bacteriano se ajustó a una curva sigmoidea ( $p < 0.001$ ) (Tabla 4).

**Tabla 3.** Calidad composicional de ingredientes mezclados y medios de cultivo en base seca.

Parámetro	Fuente de carbono			Medio de cultivo		
	Lactosuero	Sagú	Melaza	0	0.5	1
Humedad (%)	97.8 ± 0.95	6.1 ± 0.08	25.2 ± 0.31	78.5 ± 0.01	76.2 ± 0.02	73.9 ± 0.02
Materia seca (%)	2.2 ± 0.95	93.9 ± 0.08	74.8 ± 0.31	21.5 ± 0.02	23.8 ± 0.02	26.1 ± 0.04
Proteína cruda (%)	44.1 ± 0.92	1.9 ± 0.05	1.1 ± 0.13	15.2 ± 0.15	14.1 ± 0.13	13.3 ± 0.12
Cenizas (%)	13.3 ± 0.01	0.6 ± 0.35	18.4 ± 0.21	15.3 ± 0.11	14.3 ± 0.05	13.4 ± 0.08
Extracto etéreo (%)	6.6 ± 0.95	0.5 ± 0.02	2.7 ± 0.14	3.7 ± 0.01	3.6 ± 0.05	3.3 ± 0.06
Azúcares reductores	0.1 ± 0.07	0.4 ± 0.04	0.2 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.01
Azúcares no reductores	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01
Sólidos solubles totales (°brix)	7.4 ± 0.26	14.2 ± 0.03	36.4 ± 0.02	24.07 ± 1.03	23.41 ± 0.09	22.84 ± 0.09
Digestibilidad de proteína (%)	90 ± 0.02	63 ± 0.91	55 ± 0.57	87.4 ± 0.08	85 ± 0.37	80 ± 0.16
Prueba de Molish	+	+	+	+	+	+
Prueba de Felling	+	+	+	+	+	+
Prueba de Selivanoff	+	+	+	+	+	+
Prueba de Benedict	+	+	+	+	+	+

±: error estándar de la media

**Tabla 4.** Crecimiento de mesófilos (UFC/mL) en medios de cultivo con diferente fuente de carbono.

T	Día					Modelo	R <sup>2</sup> (%)
	1	2	3	4	5		
<b>C1</b>	582 ±8.1a	584 ±12.9a	1054 ±11.4b	1600 ±5.4b	1591 ±11.6b	$Y=1720.17/(1+e^{(x-1.9993)/0.8258})$	92.87
<b>C2</b>	569 ±17.6b	583 ±17.1b	2042 ±75.4a	2402 ±60.3a	2950 ±47.1a	$Y=3062.55/(1+e^{(x-2.7140)/0.7958})$	98.54
<b>0</b>	518 ±12.6c	528 ±9.4c	1054 ±14.3b	1048 ±11.7d	1224 ±15.8c	$Y=1371.15/(1+e^{(x-2.0169)/1.4163})$	96.93
<b>0.5</b>	536 ±19.4c	571 ±6.6b	1027 ±89.5c	1016 ±12.4d	1128 ±58.3d	$Y=1228.51/(1+e^{(x-1.6064)/1.3525})$	97.88
<b>1</b>	390 ±15.2d	405 ±10.5d	1029 ±19.3c	1080 ±15.6c	1119 ±17.2d	$Y=1196.41/(1+e^{(x-2.0510)/0.8625})$	95.07

C1: suero refrigerado, C2: suero sin refrigerar, 0: nivel bajo con 0% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>; 0.5: nivel medio con 0.5% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, 1: nivel alto con 1% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa en cada punto de muestreo, según la prueba de Tukey (p<0.05). ±: representa el error estándar de la diferencia entre medias. R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. X= tiempo que transcurre durante el crecimiento bacteriano.

**Variación del pH, acidez y concentración de ácido láctico.** El pH difirió entre las formulaciones significativamente (p<0.05). El suero sin refrigerar (C2) y las formulaciones con 0.5 y 1 % de almidón de sagú presentaron un pH inicial más ácido en comparación con el suero refrigerado (C1) y la formulación 0. Desde el segundo día

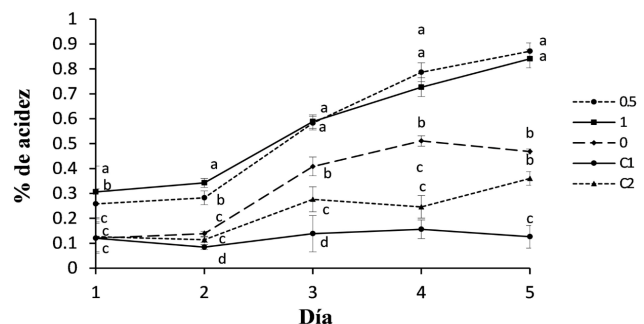
hubo diferencias significativas (p<0.05) entre el pH del suero refrigerado (C1) y las demás formulaciones. Se observó que el pH de los medios de cultivo disminuyó ajustándose a una curva de decaimiento exponencial (p<0.0001) y al finalizar el ensayo el menor valor fue para el suero sin refrigerar (4.3 ± 0.01) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Variación del pH en medios de cultivo con diferente fuente de carbono para bacterias mesófilas.

T	Día					Modelo	R <sup>2</sup> (%)
	1	2	3	4	5		
<b>C1</b>	7 ±0.12c	6.9 ±0.01a	6.7 ±0.25a	6.7 ±0.26a	6.6 ±0.27a	$Y=7.5463*e^{(-0.0519*x)}$	96.98
<b>C2</b>	6.9 ±0.04ab	6.6 ±0.04b	5.1 ±0.31b	4.8 ±0.29b	4.3 ±0.01c	$Y=8.2460*e^{(-0.1337*x)}$	97.24
<b>0</b>	7.1 ±0.02bc	6.8 ±0.01ab	4.8 ±0.06b	4.6 ±0.04b	4.6 ±0.04bc	$Y=8.1482*e^{(-0.1298*x)}$	96.02
<b>0.5</b>	6.7 ±0.03d	6.4 ± 0.01c	5.1 ±0.02b	4.5 ± 0.05 b	4.4 ±0.02bc	$Y=7.6166*e^{(-0.1176*x)}$	97.67
<b>1</b>	6.6 ±0.01d	6.2 ±0.01d	5.3 ±0.05b	4.7 ±0.01b	4.6 ±0.04bc	$Y=7.3921*e^{(-0.1027*x)}$	97.73

C1: suero refrigerado, C2: suero sin refrigerar, 0: nivel bajo con 0% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>; 0.5: nivel medio con 0.5% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, 1: nivel alto con 1% de almidón de sagú, suero, CaCO<sub>3</sub>, CaHPO<sub>4</sub>. Letras diferentes por columna indican diferencias significativas según Tukey p<0.05. ±: representa el error estándar de la diferencia entre medias. R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. X= tiempo que transcurre durante el crecimiento bacteriano.

Hubo diferencias significativas en el nivel de acidez de las formulaciones a intervalos de 24 h (p<0.05). El primer día los medios de cultivo más ácidos fueron los que incluían 0.5 (0.2582 ± 0.01) y 1 % (0.3063 ± 0.01) de almidón de sagú, los demás tratamientos estuvieron entre el rango 0.1021 – 0.8707 (p<0.05) (Figura 1). Al finalizar el ensayo el tratamiento menos ácido fue el suero refrigerado (0.1262 ± 0.01) y la mayor acidez se observó en los medios con 0.5 (0.8708 ± 0.01) y 1%(0.8407 ± 0.01) de almidón de sagú.



**Figura 1.** Porcentaje de acidez de los medios de cultivo para bacterias mesófilas durante la fermentación. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa en cada punto de muestreo, según la prueba de Tukey (p<0.05). Barras verticales representan el error estándar.



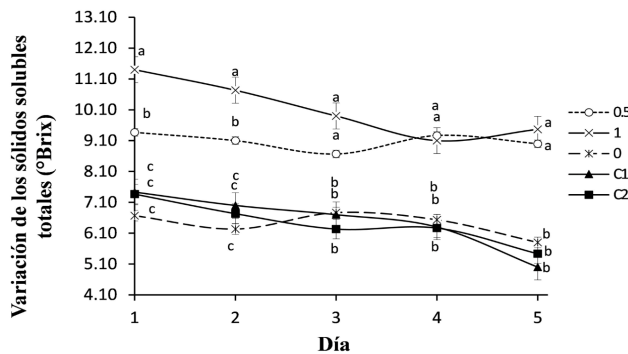
El porcentaje de acidez se relacionó con el contenido de ácido láctico total al final del ensayo observándose el valor más alto en el medio de cultivo con 1% de almidón de sagú, con diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Producción de ácido láctico en medios de cultivo con diferente fuente de carbono para bacterias mesófilas después de 5 días de fermentación.

Tratamiento	Ácido láctico (g/L)
C1	12.6 ± 0.02 d
C2	16.9 ± 0.01 c
0	18 ± 0.01g c
0.5	32.5 ± 0.02 ab
1	37.2 ± 0.01 a

C1: suero refrigerado, C2: suero sin refrigerar, 0: nivel bajo con 0% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ ; 0.5: nivel medio con 0.5% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ , 1: nivel alto con 1% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ . Letras diferentes por columna indican diferencias significativas según Tukey  $p < 0.05$ . ±: representa el error estándar de la diferencia entre medias.

**Variación de sólidos solubles totales (°Brix).** El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) estuvo por encima de 6.4°Brix (Figura 2), y disminuyó con el tiempo. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos por punto de muestreo ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2.** Contenido de sólidos solubles totales en las mezclas durante el tiempo. C1: suero refrigerado, C2: suero sin refrigerar, 0: nivel bajo con 0% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ ; 0.5: nivel medio con 0.5% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ , 1: nivel alto con 1% de almidón de sagú, suero,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ . Promedios con letras distintas indican diferencia significativa en cada punto de muestreo, según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Barras verticales representan el error estándar.

## DISCUSIÓN

La composición química del lactosuero evaluado fue superior a lo observado en lactosueros utilizados para la formulación de biopreparados con función probiótica (2.82% de extracto etéreo y 4.55% proteína cruda) (25) y lactosueros generados en Alemania y la Unión Europea, por el alto contenido de sólidos solubles, lo que se relaciona con la calidad de la leche y separación de la caseína en corto tiempo.

Las cualidades nutricionales del almidón de sagú fueron similares a lo reportado en almidón colombiano extraído por el método tradicional de rayado (15) y estuvo dentro de los rangos para almidón de buena calidad según los parámetros Codex y el departamento de agricultura de Estados Unidos, donde es considerado un alimento funcional (26).

La composición química de la melaza fue similar a la utilizada en procesos de obtención de productos de origen microbiano, pese a que su calidad varía por efecto de las variedades de caña, fertilización y el proceso de refinado del azúcar (4,27).

Los parámetros de evaluación del proceso de fermentación difirieron por tratamiento. El pH inicial en los medios fue mayor a la reportada en sueros de leche (5.54–5.76) (11), pero se redujo durante el proceso de fermentación ya que azúcares como la glucosa, lactosa, fructuosa, y la sacarosa son utilizados como fuentes de energía durante el crecimiento microbiano de bacterias mesófilas que producen ácido láctico (18,11), se reporta consumo total de las fuentes de carbono luego de 10 días (6).

El agotamiento de los azúcares fue proporcional con la disminución en el contenido de sólidos solubles totales, pero, se observó valores más altos de °Brix en las formulaciones con 0.5 y 1 % de almidón de sagú por la inclusión de melaza que puede aportar hasta el 50% de azúcares totales en materia seca (6).

La disminución en el pH del suero de la leche se puede detener a partir de la refrigeración como se observó en C1, debido a que las bajas temperaturas frenan el metabolismo microbiano y en consecuencia la proliferación de bacterias, esto permite que el contenido de lactosa se estabilice hasta por cuatro semanas (5,11), y se debe a que la velocidad de crecimiento bacteriano tiene una relación lineal con la temperatura (28).

La disminución del pH en las demás formulaciones se estabilizó a partir del tercer día, gracias a la inclusión de  $\text{CaCO}_3$ , debido a que actúa como un agente neutralizador, por ejemplo: con la inclusión de 0.5%  $\text{CaCO}_3$  en fermentaciones en estado sólido se mantiene el pH sobre 4.8 (18). Pero, la inclusión de  $\text{CaCO}_3$  puede tener actividad antimicrobiana por efecto de la formación de ácido carbónico (4), esto puede haber limitado el crecimiento de bacterias mesófilas en los medios de cultivo evaluados.

Se reporta que la fuente de carbono influye en la cantidad de ácido láctico producido en medios de masificación bacteriana, por ejemplo, *Lactobacillus rhamnosus* puede utilizar glucosa y sacarosa, sin embargo, con extractos de algarrobo (*Ceratonia siliqua*) que contienen 35 g/L de sacarosa y 30 g/L de hexosas, solo consume la hexosa y produce hasta 22 g/L de ácido láctico, comparado con medios con sacarosa (16 g/L ácido láctico) (29). Los resultados obtenidos muestran que los mesófilos del lactosuero pueden producir valores superiores a estos, destacándose las formulaciones con 0.5 % ( $32.5 \pm 0.02$  g/L) y 1 % ( $37.2 \pm 0.01$  g/L) de almidón de sagú. Pero, estos valores resultan inferiores a los observados en un sistema de fermentación alimentado (57 g/L) formulado con licor de maíz (45 mL/L), sulfato de manganeso (0.075 g/L) y lactosa de suero de leche (60 g/L) (30) lo que se relaciona con el agotamiento de nutrientes y con la estructura de los azúcares aportados por las materias primas. Debido a que el componente principal de la melaza es la sacarosa, que debe

ser convertida a fructosa y glucosa para ser asimilada (4), y el almidón de sagú aporta azúcares en forma de amilopectina y amilosa, que deben ser desdoblados hasta glucosa, sin embargo, el uso eficiente de las fuentes de carbono está relacionado directamente con el microorganismo, además, nutrientes adicionales como el azufre y nitrógeno pueden favorecer el crecimiento microbiano (6,14,20).

En conclusión, el enriquecimiento de lactosuero con fuentes minerales, melaza y *Canna indica* L. 1% favorecen el crecimiento de bacterias aerobias mesófilas que pueden producir hasta 37.2 g/L de ácido láctico. En este medio se presentó el menor crecimiento de microorganismos pero la mayor producción de ácido láctico, lo que indica que bacterias ácido lácticas (BAC) que no pertenecen al grupo de aerobios mesófilos como las BAC anaerobias facultativas pudieron contribuir a la generación de producto, por ello se sugiere que en próximas pruebas se determine las BAC que crecen en estos medios de cultivo. En general, el tipo de sustrato, el aporte de proteína, azúcares y minerales son factores que intervienen en el crecimiento de microorganismos especializados y en los productos que se generan durante el proceso de fermentación.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses para la publicación de este artículo.

## REFERENCIAS

1. Diaz-Vela J, Mayorga-Reyes L, Totosaus SA, Perez-Chabela MDL. Kinetic parameters and short-chain fatty acid profile of thermotolerant lactic acid bacteria with different carbon sources. *Vitae*. 2012; 19(3):253-260. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/11505>
2. Sarhan MS, Hamza MA, Youssef HH, Patz S, Becker M, Elsayey H, et al. Culturomics of the plant prokaryotic microbiome and the dawn of plant-based culture media - A review. *J Adv Res*. 2019; 19:15-27. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.04.002>
3. Zacarías-Sánchez KI, Rodríguez-Flores F, Luna-Jiménez AL, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. Complex culture media for the quantification of lactic acid bacteria. *Eur Sci J*. 2019; 15(27):10-22. <http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n25p1>
4. Yong K, Hussin MH, Baidurah S. Biosynthesis of poly (3- hydroxybutyrate) (PHB) by *Cupriavidus necator* from various pretreated molasses as carbon source. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2019; 17:51-59. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.006>

5. Soupioni M, Psarologou A, Koutinas A. Revealing new promoters in whey fermentation leads to a new research concept. *Heliyon*. 2019; 5(2):1-15. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01262>
6. Salari M, Khiabani SM, Mokarram RR, Ghanbarzadeh B, Kafil SH. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from bacterial cellulose produced in sugar beet molasses and cheese whey media. *Int J Biol Macromol*. 2019; 122:280-288. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.136>
7. Brandelli A, Daroit JD, Corrêa AP. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Res Int*. 2015; 73:149-161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.016>
8. Khramtson, AG. New technological paradigm of the Russian dairy industry: Formation principles under globalization. *Foods raw mater*. 2019; 7(2):291-300. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-291-300>
9. Deep G, Hassan AN, Metzger L. Exopolysaccharides modify functional properties of whey protein concentrate. *J Dairy Sci*. 2012; 95(11):6332-6338. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5649>
10. Johnson ME. A 100-Year Review: cheese production and quality. *J Dairy Sci*. 2017; 100(12):9952-9965. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12979>
11. Parashar A, Jin Y, Mason B, Chae M, Bressler DC. Incorporation of whey permeate, a dairy effluent, in ethanol fermentation to provide a zero waste solution for the dairy industry. *J Dairy Sci*. 2016; 99(3):1859-1867. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10059>
12. Cagri-Mehmetoglu A, Kusakli S, Venter M. Production of polysaccharide and surfactin by *Bacillus subtilis* ATCC 6633 using rehydrated whey powder as the fermentation medium. *J Dairy Sci*. 2012; 95(7):3643-3649. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5385>
13. Reihani SFS, Khosravi-Darani K. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: a review. *Electron J Biotechnol*. 2019; 37:34-40. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.11.005>
14. Garcés FR, Carbo JJ. First report of *Puccinia thaliae* in *Canna* spp. in Ecuador. *Bioagro*. 2013; 25(3):207-210. [http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev25\(3\)/9.%20MS%201307.pdf](http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev25(3)/9.%20MS%201307.pdf)
15. Fonseca-López D, Monroy-Fonseca L, Rodríguez-Molano CE. Effect of *Canna indica* L. starch extraction method on its physicochemical properties. *Rev Lasallista Investig*. 2019; 16(2):44-52. <https://doi.org/10.22507/rli.v16n2a4>
16. Yi L, Boekel MAJS, Boeren S, Lakemond CMM. Protein identification and in vitro digestion of fractions from *Tenebrio molitor*. *Eur Food Res Technol*. 2016; 242:1285-1297. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2632-6>
17. Rodríguez-Molano C, Fonseca-López D, Niño-Monroy LE, Salamanca-López AE, Hoyos-Concha JL, Otero-Ramírez ID, Torres-Lagos N. Nutritional characterization and biomass production of *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra* and *Morus alba* in a forage bank. *Ciencia en Desarrollo*. 2019; 10(2):23-32. <https://doi.org/10.19053/01217488.v10.n2.2019.9098>
18. Fonseca-López D, Saavedra-Montañéz G, Rodríguez-Molano CE. Elaboration of a carrot (*Daucus carota* L.) based cattle feed by solid-state fermentation as an eco-efficient alternative. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 2018; 12(1):175-182. <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.7416>
19. Figueira ACM, Rocha JBT. A proposal for teaching undergraduate chemistry students carbohydrate biochemistry by problem-based learning activities. *Biochem Mol Biol Educ*. 2013; 42(1):81-87. <https://doi.org/10.1002/bmb.20745>
20. Kim M, Seo JA. Fermentation profiling of rice wine produced by *Aspergillus oryzae* KSS2 and *Rhizopus oryzae* KJJ39 newly isolated from Korean fermentation starter. *Appl Biol Chem*. 2021; 64(25):1-7. <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00582-2>



21. Besir A, Yazici F, Mortas M, Gul O. A novel spectrophotometric method based on Seliwanoff test to determine 5-(Hydroxymethyl) furfural (HMF) in honey: Development, in house validation and application. *LWT*. 2021; 139:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602>
22. Pawar HA, Gavasane AJ, Choudhary PD. Extraction of polysaccharide from fruits of *Cordia dichotoma* G. Forst using acid precipitation method and its physicochemical characterization. *Macromolecules*. 2018; 115:871-875. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.146>
23. Fonseca-López D, Rodríguez-Molano CE. Effect of a microbial inoculant on the microbiological and nutritional quality of *Morus alba* L. and *Sambucus nigra* L. silage. *J Logos Cienc Tecnol*. 2019; 11(2):93-101. <https://doi.org/10.22335/rlct.v11i2.825>
24. Zou Y, Wang Y, Deng Y, Cao Z, Li S, Wang J. Effects of feeding untreated, pasteurized and acidified waste milk and bunk tank milk on the performance, serum metabolic profiles, immunity, and intestinal development in Holstein calves. *J Anim Sci Biotechnol*. 2017; 8(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0182-4>
25. Miranda-Yuquilema J, Marin-Cárdenas A, Valle-Cepeda A, Barros-Rodríguez M, Marrero-Suárez L, Hidalgo-Almeida L, Rivera-Guerra V. Wastes of agroindustry an alternative to develop biopreparates with probiotic capacity. *Trop Subtrop Agroecosystems*. 2018; 21(1):46-52. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/2599/1111>
26. Ali AH. Current knowledge of buttermilk: Composition, applications in the food industry, nutritional and beneficial health characteristics. *Int J Dairy Technol*. 2019; 72(2):169-182. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12572>
27. Zhang S, Wang J, Jiang H. Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. *Food Chem*. 2021; 346:1-14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128860>
28. Fonseca-López D, Vivas-Quila NJ, Balaguera-López HE. Techniques applied in agricultural research to quantify nitrogen fixation: a systematic review. *Cienc Tecnol Agropecuaria*. 2019; 21(1):1-19. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num1\\_art:1342](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num1_art:1342)
29. Bahry H, Abdalla R, Pons A, Taha S, Vial Ch. Optimization of lactic acid production using immobilized *Lactobacillus Rhamnosus* and carob pod waste from the Lebanese food industry. *J Biotechnol*. 2019; 20:81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.09.017>
30. Bernardo MP, Coelho LF, Sass DC, Contiero J. l-(+)-Lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste. *Braz J Microbiol*. 2016; 47(3):640-646. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.12.001>