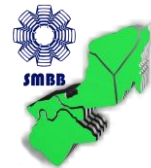




**XI CBBSS**



## Área 02

# Biotecnología y Fermentaciones





Contenido

<p><b>Ensayo de biodegradación de hexadecano en un reactor de tanque agitado con agua de mar como medio de cultivo</b>                  Sergio Valdivia-Rivera, Teresa Ayora-Talavera, Neith Pacheco, Juan Carlos Cuevas-Bernardino, Ulises García-Cruz, Manuel Alejandro Lizardi-Jiménez</p>	17
<p><b>Efecto de los componentes del sistema en la respuesta capacitiva de una celda electroquímica microbiana en operación intermitente</b>                  Elías Canché-Dzib, Bibiana Cercado</p>	18
<p><b>Valoración del fruto del chicozapote “<i>Manilkara zapota</i>” para la obtención de bioetanol</b>                  Blanca del Rosario Martín Canché, Maximiliano Vanoye Eligio, Abimael Naal Ocampo, Martin Gabriel Chan Palomo, José Luis Guillen Taje, Eliezer del Jesús Casado Ramírez, Luis Vázquez Oleta</p>	19
<p><b>Influencia del tamaño de partícula de microplásticos de residuos de botella comercial en la biodegradación de pet por hongos</b>                  Leticia Narciso Ortiz, Carolina Peña Montes, Manuel Alejandro Lizardi Jiménez, Eliel Ruíz May</p>	20
<p><b>Importancia de la concentración de nitrógeno en el crecimiento y actividad antimicrobiana de <i>Pseudoalteromonas sp</i></b>                  Jorge Luis Borges Cú, Ruth López Alcántara, José Efraín Ramírez Benítez, Ariadna Garza Ortíz, Luis Alberto Núñez Oreza</p>	21
<p><b>Producción de bio-hidrógeno durante la fermentación oscura por <i>Escherichia coli</i> de papa (<i>Solanum tuberosum</i>) pretratada por molienda mecánica de alta energía</b>                  Alfredo Martínez-García, Erick Adrián Juárez-Arellano, Ana Karin Navarro-Martínez</p>	22
<p><b><i>Enterococcus faecalis</i> DB5 PERFORMANCE FOR LACTIC FERMENTATION IN AN OPEN STIRRED TANK BIOREACTOR</b>                  Fukuda Daisuke, Carvajal-Zarrabal Octavio, Navarro-Moreno Leticia Guadalupe, Jesús Carrillo-Ahumada, Aparicio-Sanguilán Alejandro, García-Gómez Ma. de Jesús, Mohammad Omar Abdullah, Nolasco-Hipólito Cirilo</p>	23



## ENSAYO DE BIODEGRADACIÓN DE HEXADECANO EN UN REACTOR DE TANQUE AGITADO CON AGUA DE MAR COMO MEDIO DE CULTIVO

Sergio Valdivia-Rivera<sup>a</sup>, Teresa Ayora-Talavera<sup>a</sup>, Neith Pacheco<sup>a</sup>, Juan Carlos Cuevas-Bernardino<sup>b</sup>, Ulises García-Cruz<sup>c</sup>, Manuel Alejandro Lizardi-Jiménez<sup>d</sup>; <sup>a</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Subsede Sureste, Mérida, Yuc. CP. 97302, <sup>b</sup>CONACYT-CIATEJ, Mérida, Yuc. CP. 97302, <sup>c</sup>Escuela Nacional de Estudios Superiores-Mérida, Mérida, Yuc. CP. 97357, <sup>d</sup>CONACYT-Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P., CP. 78210, [chamarripas@yahoo.com.mx](mailto:chamarripas@yahoo.com.mx)

*Palabras clave: Biorremediación, hidrocarburos, agua de mar*

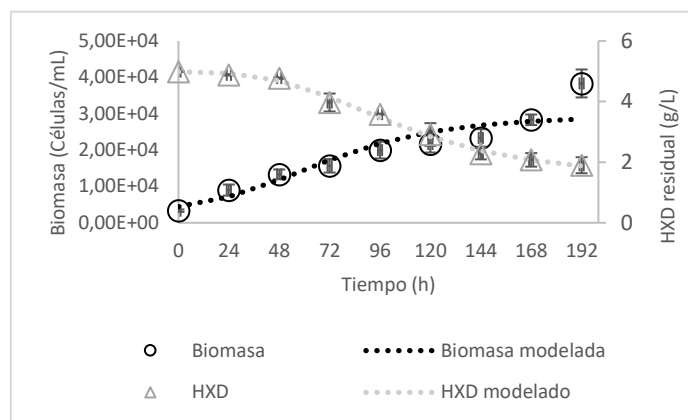
**Introducción.** La contaminación por hidrocarburos ocasiona serios problemas al medio ambiente y afectaciones a la salud de diversas especies [1]. Una alternativa de remediación es el uso de microorganismos para biodegradar los contaminantes al consumirlos como fuente de carbono [2]. Sin embargo, se ha reportado que los ambientes salinos afectan negativamente los procesos de biodegradación [3] En este trabajo se evaluó la capacidad de un consorcio bacteriano compuesto por *Marinobacter*, *Alcanivorax*, *Gordonia*, *Hyphomonas* y *Nautella*, para degradar hexadecano (HXD) en agua de mar.

**Metodología.** Se realizaron cinéticas de 192 h en un reactor de tanque agitado, con 5 g/L de HXD como fuente de carbono y agua de mar estéril ([NaCl] = 34 g/L) como medio. Se inoculó con  $3.33 \times 10^3$  células/mL del consorcio bacteriano y se mantuvo con aireación y agitación constante. Se tomaron muestras cada 24 h, analizando concentración celular mediante conteo en cámara de Neubauer, hidrocarburo residual con cromatografía de gases y los datos experimentales se analizaron empleando el modelo matemático de Gompertz [4].

**Resultados.** Se observó producción de biomasa (Figura 1) que, de acuerdo con los datos del modelo (Tabla 1), inició de forma inmediata. Para el tiempo final del cultivo se alcanzó una concentración de  $3.83 \times 10^4$  células/mL y el HXD inició su fase exponencial de degradación a partir de las 52.13 h, con un porcentaje de remoción final de  $61.8 \pm 5.40$  %

**Tabla 1.** Parámetros de ajuste y biológicos obtenidos con el modelo.

Parámetro	Biomasa	HXD
$R^2_{ajustada}$	0.9067	0.9927
$\mu_{max}$	0.02	0.01
$\lambda$	-10.94	52.13



**Fig. 1.** Cinética de biodegradación de HXD.

**Conclusiones.** El consorcio bacteriano evaluado fue capaz de crecer con hexadecano como única fuente de carbono en un medio con agua de mar. El consorcio es prometedor para continuar estudios de biodegradación en ambientes salinos.

**Agradecimiento.** Al CONACYT por la beca #715423 para estudios de posgrado.

### Bibliografía.

- Schwacke L.H., Marques T.A., Thomas L., Booth C.G., Balmer B.C., Barratclough A., Colegrove K., De-Guise S., Garrison L.P., Gomez F.M., Morey J.S., Mullin K.D., Quigley B.M., Rosel P.E., Rowles T.K., Takeshita R., Townsend F.I., Speakman T.R., Wells R.S., Zolman E.S., Smith C.R. (2021) *Conserv. Biol.* Vol. 36: 13.
- Ganesan M., Mani R., Sai S., Kasivelu G., Awasthi M.K., Rajagopal R., Wan-Azelee N.I., Selvi P.K., Chang S.W., Ravindran B. (2022) *Chemosphere* Vol. 303: 134956.
- Zhang X., Bao D., Li M., Tang Q., Wu M., Zhou H., Liu L., Qu Y. (2020). *J. Chem. Technol. Biotechnol.* Vol 96: 809-817
- Valdivia-Rivera S., Varela-Santos E.C., Quiñones-Muñoz T.A., Hernández-Martínez R., Lizardi-Jiménez M.A. (2019) *3 Biotech* Vol. 9.



## EFFECTO DE LOS COMPONENTES DEL SISTEMA EN LA RESPUESTA CAPACITIVA DE UNA CELDA ELECTROQUÍMICA MICROBIANA EN OPERACIÓN INTERMITENTE

Elías Canché-Dzib, Bibiana Cercado

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C., Pedro Escobedo, Querétaro, C.P. 76703, jcanche@cideteq.mx.

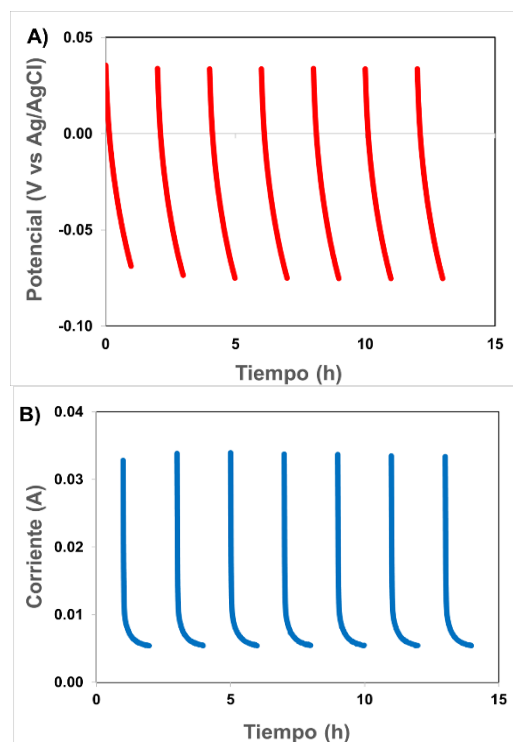
*Palabras clave: MEC, corriente transiente, capacitancia, almacenamiento de carga.*

**Introducción.** Las celdas electroquímicas microbianas permiten generar corriente eléctrica empleando un electrodo sólido como aceptor final de electrones del metabolismo oxidativo microbiano. Se ha encontrado que ante la ausencia del aceptor final (circuito abierto) se almacena carga eléctrica en el bioánodo (1), de contribución conjunta entre el material del electrodo, la biopelícula y el electrolito (2), la cual se recupera durante la reconexión de la celda en forma de corriente (circuito cerrado), operando así de forma intermitente.

Debido a que la respuesta intrínseca de la biopelícula microbiana se encuentra enmascarada, este trabajo se propuso diferenciar y comparar la carga eléctrica almacenada en el sistema electrodo-biopelícula-electrolito mediante experimentos de control.

**Metodología.** Se midieron las respuestas de corriente en modo intermitente de diferentes configuraciones del sistema, tanto de forma independiente para cada componente: electrodo (filtro de carbono), electrolito (KCl 50 mM), sustrato (CH<sub>3</sub>COONa 10 mM), inóculo (lixiviado de composta) y biopelícula; así como de forma aditiva, empezando con el electrodo + electrolito, hasta completar el sistema biológico (3). Adicionalmente, se caracterizaron las diferentes variaciones del sistema mediante técnicas electroanalíticas para cuantificar y comparar las propiedades capacitivas de las mismas variaciones.

**Resultados.** El potencial de circuito abierto y la corriente producida en operación intermitente por la celda microbiana se muestran en la Figura 1. Se observa un pico de corriente (al inicio) atribuible a la carga eléctrica almacenada y una corriente basal (al final) debida al metabolismo microbiano, ambos como respuesta sinérgica de los múltiples componentes del sistema electroquímico microbiano. Posteriormente, se diferenció la contribución de corriente transiente (transitoria) de origen biológico al de la respuesta intrínseca de la celda electroquímica debida a la polarización del electrodo de trabajo (ánodo). Adicionalmente se determinaron los valores de resistencia óhmica, de transferencia de carga y la capacitancia de las diferentes configuraciones de la celda electroquímica.



**Fig. 1.** A) Evolución del potencial del ánodo y B) la corriente producida por la celda microbiana en operación intermitente.

**Conclusiones.** Con este trabajo se dilucidó el efecto individual y sinérgico de los componentes principales de una celda electroquímica microbiana sobre la respuesta de corriente debida al almacenamiento de carga eléctrica. El valor de corriente transiente biológica fue hasta dos órdenes de magnitud superior al de la celda de control abiótico.

**Agradecimiento.** Al CONACYT por la beca de maestría 001797-Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología.

### Bibliografía.

1. Uría N., Muñoz-Berbel J., Sánchez O., Muñoz F.J., Mas J. (2011). *Environ. Sci. Technol.* 45 (23): 10250-10256.
2. Feng C., Lv Z., Yang X., Wei C. (2014) *Phys. Chem. Chem Phys.* 16 (22): 10464-10472.
3. Canché-Dzib E., Cercado B. (2022) *Environ Qual Manage.* xx (xx): 1-10.



## VALORACIÓN DEL FRUTO DEL CHICOZAPOTE “*Manilkara zapota*” PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Blanca del Rosario Martín Canché, Maximiliano Vanoye Eligio, Abimael Naal Ocampo, Martín Gabriel Chan Palomo, José Luis Guillén Taje, Eliezer del Jesús Casado Ramírez, Luis Vázquez Oleta

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico Superior de Escárcega, Ingeniería en Energías Renovables, Escárcega Campeche 24350, [blanca\\_martin@itsescarcega.edu.mx](mailto:blanca_martin@itsescarcega.edu.mx)

<sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico Superior de Escárcega, Ingeniería en Industrias Alimentarias, Escárcega, Campeche, 24350

*Palabras clave: Bioetanol, chicozapote, catalizador*

**Introducción.** *Manilkara zapota* es considerado un árbol tropical perennifolio mejor conocida como chicozapote, distribuida en América Latina, central y México. Se ha registrado que México exporta el 57% de los frutos tropicales a Estados Unidos, de los cuales el 18% es chicozapote (1), favorecido por la diversidad de climas (2). Por su parte, Pérez *et al.* (3) menciona, que se ha empleado a la fruta del chicozapote en la industria como ingrediente en alimentos funcionales, además de la extracción de látex (4), contribuyendo a la seguridad alimentaria en las comunidades rurales y urbanas. En el área médica, frutos y hojas de chicozapote se han analizado de manera experimental, con resultados significativos en su composición corporal y en el perfil metabólico de ratas wistar (5). Rivera *et al.* (1) ha empleado alternativas para aprovechar las propiedades del chicozapote para la obtención de azúcares, ya que el fruto registra un contenido del 20% de carbohidratos complejos, convirtiéndola en una fuente importante de almidón. La finalidad del estudio es la aplicación del fruto del chicozapote como bioenergético para la obtención del bioetanol.

### Metodología.

Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la fruta, con el objetivo de usarlas en un protocolo de fermentación, respectivamente para su conservación y preservación. De igual forma se aplicó un proceso bioquímico de fermentación considerando; temperatura, suplemento nitrogenado, levadura y el medio acuoso. Posteriormente, se sometieron a prueba seis muestras respectivamente; de las cuales, a tres se les añadió un fuente de nitrógeno suplementaria (Cloruro de Amonio (NH<sub>4</sub>Cl) al 0.2 % p/p de la materia prima), a una temperatura ambiente de 30°±35°C, con la finalidad de acelerar el proceso de fermentación durante 25 días. Posteriormente, se procesó el fermentado líquido por destilación para la obtención del bioetanol, evaluando la pureza de etanol obtenido. Las tres muestras restantes se les aplicó un proceso similar, pero sin catalizador.

**Resultados.** Se observó que, después del proceso de destilación, las muestras donde se utilizó NH<sub>4</sub>Cl en el proceso de fermentación (A, C, F) presentan una mayor

producción de alcohol (50 al 65%) mientras que a las que no se les añadió un catalizador (B, D, E) registraron del 31 al 41% de pureza del alcohol (Tabla 1). Asimismo, se demostró la pureza que se obtuvo de cada muestra durante las tres destilaciones, observándose que la muestra F con catalizador tuvo mayor pureza y las muestras D, E sin catalizador presentaron menor pureza (Tabla 1).

**Tabla 1.** Pruebas de destilaciones

Muestras	Materia prima	Catalizador	Cantidad destilada	Tiempo de Destilación	% de biotanol puro		
					Destilación 1	Destilación 2	Destilación 3
A	pulpa	SI	50ml	25 min	43	50	50
B	pulpa	NO	50ml	25 min	36	33	50
C	casaca	SI	50ml	25 min	23	27	46
D	casaca	NO	50ml	25 min	31	44	36
E	casaca y pulpa	NO	50ml	25 min	41	47	36
F	casaca y pulpa	SI	50ml	25 min	31	44	65

**Conclusiones.** El chicozapote, ha resultado una opción bioenergética potencial para la obtención de bioetanol en el Sureste Mexicano por sus beneficios que otorgan sus propiedades, así como una opción económica para las comunidades rurales.

### Agradecimiento.

Al Instituto Tecnológico Superior de Escárcega y estudiantes de Energías Renovables por las facilidades otorgadas en sus instalaciones.

### Bibliografía.

- Rivera, V. J., Bazán, I. S., & Páez, A. S. A. (2020). Revista Electrónica sobre Tecnología, Educación y Sociedad, 7(14), 218-236
- Arrieta Ramos, B., Villegas Monter, A., Ruelas Hernández, P., Juárez Rossete, C., & Partida Lucian, K. (2020). Polibotánica(49), 93-106.
- Pérez, F. D. M. B., Solís, J. R. H., & Inungaray, M. L. C. (2020). Tlatemoani: revista académica de investigación, 11(33), 48-62.
- Rincón, V. H. A., & Torres, T. C. (2018). Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible, 7, 13-28.
- Osman, M. A., Aziz, M. A., Habib, M. R., & Karim, M. R. (2011). International Journal of Drug Development and Research, 3(1), 0-0.



# INFLUENCIA DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DE MICROPLÁSTICOS DE RESIDUOS DE BOTELLA COMERCIAL EN LA BIODEGRADACIÓN DE PET POR HONGOS

Leticia Narciso Ortiz<sup>a</sup>, Carolina Peña Montes<sup>a\*</sup>, Manuel Alejandro Lizardi Jiménez<sup>b</sup>, Eliel Ruíz May<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Veracruz, Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Laboratorio de Genética. Veracruz, Ver. C.P. 91897.

<sup>b</sup>CONACYT-Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Derecho. San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 91897.

<sup>c</sup>Instituto de Ecología A. C., Red de Estudios Moleculares Avanzados. Xalapa, Ver. C.P. 91073.

\*[carolina.pm@veracruz.tecnm.mx](mailto:carolina.pm@veracruz.tecnm.mx)

Palabras clave: Biodegradación, Tereftalato de polietileno, Hongos

**Introducción.** El tereftalato de polietileno (PET) es uno de los poliésteres más utilizados, por ejemplo, en botellas para bebidas, lo que genera una gran cantidad de desechos, haciendo necesario el estudio de procesos alternativos como la biodegradación. En el grupo de trabajo se ha demostrado la actividad hidrolítica sobre PET de cutinasas expresadas por hongos fitopatógenos [1, 2].

El objetivo del trabajo fue determinar la influencia del tamaño de partícula del polímero en la biodegradación de PET de botella comercial por hongos fitopatógenos.

**Metodología.** Se cultivaron  $1 \times 10^6$ /mL esporas del hongo del género *Aspergillus* en medio mínimo líquido a 37°C y 50 rpm [3] con residuos de PET de botella de agua Bonafont® al 1% como única fuente de carbono en diferentes tamaños (película 2x2 cm, 2000-710 µm, 710-355 µm y <355 µm). Estas partículas de PET fueron también ensayadas adicionando 0.5% de glicerol (GLI) o 0.5% de glucosa (GLC). Se determinó el porcentaje de degradación de PET por diferencia de peso seco [4] y g de biomasa seca por mL de extracto crudo.

**Resultados.** El tamaño de las partículas de PET influye en el tiempo de aparición y cantidad de biomasa producida (Fig. 1). En las condiciones con PET adicionado con glucosa o glicerol la biomasa en su mayoría se observó al día 1 de cultivo. En el caso de PET como única fuente de carbono, se observó primero presencia de biomasa con el menor tamaño de microplásticos (<355 µm), al día 13 se presentó la mayor concentración ( $0.657 \pm 0.043$  mg·mL<sup>-1</sup>). Los tamaños de microplásticos de PET restantes generaron biomasa visible en días posteriores, aunque con menor concentración, y en la película se observó en el día 35. En cuanto a la degradación, el mayor porcentaje se presentó con la condición PET<355 µm 1% + GLI 0.5% con un  $1.84 \pm 0.06$  %, este resultado no es muy distante del resultado siguiente en la escala, donde solo se utilizó PET<355 µm ( $1.62 \pm 0.06$  %) (Fig. 2). En bacterias se ha reportado un comportamiento similar en porcentaje de degradación en relación con tamaño de PET [4, 5]. El porcentaje de degradación de PET por el hongo usado en este trabajo es mayor que el reportado con cutinasas fúngicas purificadas sobre película de PET (1.1%) [1].

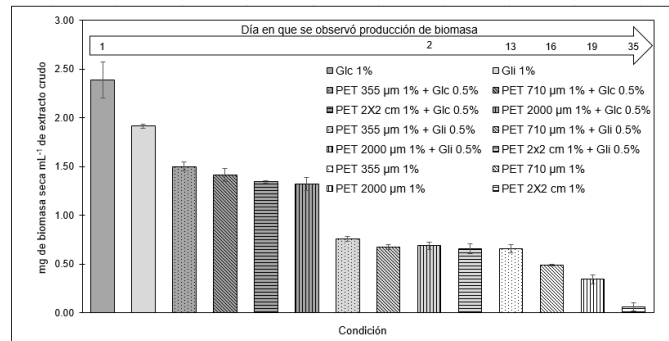


Fig. 1. Biomasa seca (mg/mL) obtenida en diferentes condiciones de fuente de carbono.

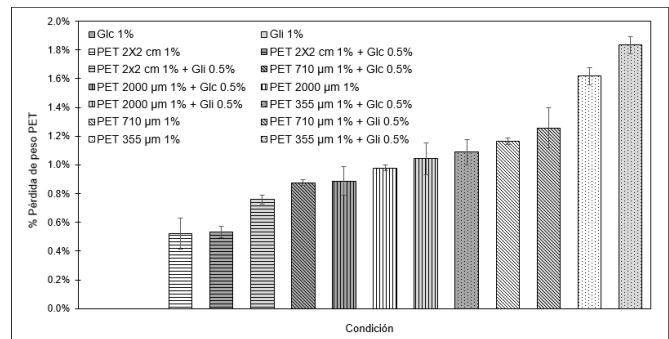


Fig. 2. Porcentaje de pérdida de peso de PET en extracto crudo de cultivo del hongo en diferentes condiciones de fuente de carbono

**Conclusiones.** Los hongos del género *Aspergillus* son aptos para crecer con PET como única fuente de carbono. El tamaño de microplásticos de residuos de PET de <355 µm mostró los mejores resultados de producción de biomasa y porcentaje de biodegradación en un menor tiempo.

**Agradecimiento.** A CONACYT por el Proyecto A1-S-47929 y la beca de doctorado otorgada al primer autor.

## Bibliografía.

- [1] Peña-Montes C., et al. (2017). Patente WO 2017/204615 A2.
- [2] Vázquez-Alcántara et al. (2021). *Microbiology Spectrum*, 9(3), 1-12. DOI: 10.1128/Spectrum.00976-21
- [3] Bermúdez-García, E., et al. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(9), 3863-3874. DOI: 10.1007/s00253-019-09712-3
- [4] Farzi, A., et al. (2019). *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 17, 25-31. DOI: 10.1016/j.bcab.2018.11.002
- [5] Wright, R. J., et al. (2021). *Microbiome*, 9(1), 1-22. DOI: 10.1186/s40168-021-01054-5



## IMPORTANCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO EN EL CRECIMIENTO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE *PSEUDOALTEROMONAS SP*

Jorge Luis Borges Cú<sup>1</sup>, Ruth López Alcántara<sup>1</sup>, José Efraín Ramírez Benítez<sup>2</sup>, Ariadna Garza Ortíz<sup>2</sup>, Luis Alberto Núñez Oreza<sup>1</sup>. 1. Centro de Investigaciones Biomédicas, 2. Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche. San Francisco de Campeche, Campeche. CP: 24050.

Correo electrónico: [al050256@uacam.mx](mailto:al050256@uacam.mx)

Palabras clave: *Pseudoalteromonas*, antimicrobiano, relación C/N

**Introducción.** Las bacterias marinas del género *Pseudoalteromonas* son Gram negativas, bacilos curvos, móviles y quimioorganotróficos. La producción de metabolitos secundarios por parte de estas bacterias marinas depende de las condiciones ambientales debido a que determina la cantidad, diversidad estructural y actividad biológica de un compuesto específico producido. El problema particular en este estudio radica en comprender la relación que existe entre el tipo y disponibilidad de los nutrientes con el crecimiento y actividad antimicrobiana de *Pseudoalteromonas sp.* mientras se analiza la relación C/N del medio. Establecer el efecto de la variación de la concentración de nitrógeno y carbón del medio en la capacidad antimicrobiana de *Pseudoalteromonas sp.* fue el objetivo del trabajo.

**Metodología.** Se utilizó la bacteria marina *Pseudoalteromonas sp.* la cual creció en medios con diferentes concentraciones de carbón y nitrógeno de fuentes orgánicas o inorgánicas y ver el efecto en producción de biomasa y actividad antimicrobiana. Para cuantificar el contenido de nitrógeno y carbón total en el medio se utilizó el método de Kjeldahl y un analizador Shimadzu, respectivamente. Al término de 48 h de incubación, se recuperó la biomasa(1) y se analizó su producción por peso seco y la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer contra la bacteria patógena *Staphylococcus aureus* (2).

**Resultados.** Los resultados mostraron que el incremento en la relación C/N estimuló la producción de biomasa pero inhibió la actividad antimicrobiana sin importar la naturaleza de la fuente de carbono (dato no mostrado).

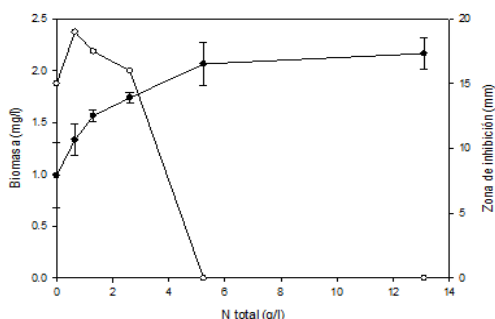


Fig. 1. Efecto de la cantidad de Nitrógeno en la producción de biomasa (●) y la actividad antimicrobiana (○) en un medio que contiene glucosa y  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

Por otro lado, el perfil de biomasa y actividad antibiótica fueron dependientes en la variación de bajas concentraciones de nitrógeno total del medio, y especialmente a concentraciones mayores de  $3 \text{ g L}^{-1}$  afectaron negativamente la actividad antimicrobiana. Esto indicó que el principal factor que afectó la capacidad antibiótica de *Pseudoalteromonas* contra *S. aureus* fue la concentración de nitrógeno más que la relación C/N.

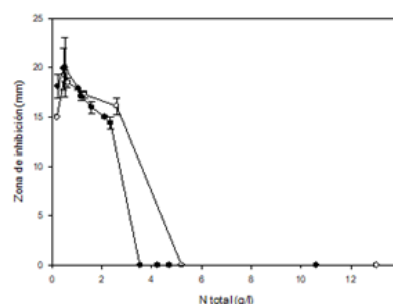


Fig. 2 Efecto de la cantidad de Nitrógeno en la actividad antimicrobiana en dos medios diferentes.

**Conclusiones.** Del análisis del crecimiento bacteriano y la producción del antibiótico de *Pseudoalteromonas* en un medio con baja relación C/N, la presencia de fuente de nitrógeno rápidamente metabolizable favoreció la actividad del metabolismo secundario, mientras que en altas relaciones C/N favoreció la producción el incremento de biomasa. El parámetro determinante fue la concentración de nitrógeno total ya que a concentraciones mayores de  $3 \text{ g/l}$  inhibió la actividad antimicrobiana

**Agradecimiento.** A Arqueología subacuática del Centro INAH Campeche por el apoyo técnico en la toma de muestras marinas.

### Bibliografía.

- Yang, X., Wang, D., Zhou, Q., Nie, F., Du, H., Pang, X., Fan, Y., Bai, T., & Xu, Y. (2019). *BMC microbiology*, 19(1), 240. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1613-5>
- Cetina, A., Matos, A., Garma, G., Barba, H., Vázquez, R., Zepeda-Rodríguez, A., Jay, D., Monteón, V., & López, R. (2010). *Revista Peruana de Biología*, 17(2), 231-236. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172799332010000200014&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172799332010000200014&lng=es&tlng=en)



## PRODUCCIÓN DE BIO-HIDRÓGENO DURANTE LA FERMENTACIÓN OSCURA POR *Escherichia coli* DE PAPA (*Solanum tuberosum*) PRETRATADA POR MOLIENDA MECÁNICA DE ALTA ENERGÍA

Alfredo Martínez-García<sup>1</sup>, Erick Adrián Juárez-Arellano<sup>1</sup>, Ana Karin Navarro-Martínez<sup>2</sup>

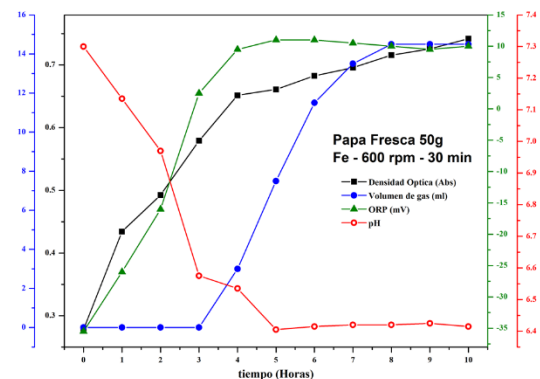
<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Científicas, Instituto de Química Aplicada, Universidad del Papaloapan, Circuito central 200, Col. Parque Industrial, C.P. 68301, Tuxtepec, Oax., México. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Científicas, Instituto de Biotecnología, Universidad del Papaloapan, Circuito central 200, Col. Parque Industrial, C.P. 68301, Tuxtepec, Oax., México. [alfredom266@gmail.com](mailto:alfredom266@gmail.com)

*Palabras clave:* Molienda Mecánica de Alta Energía (MMAE), fermentación oscura, Bio-H<sub>2</sub>.

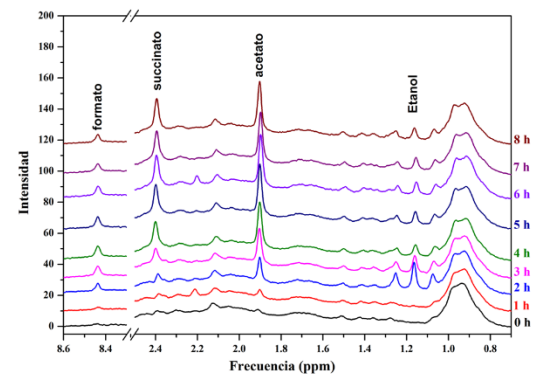
**Introducción.** El proceso más caro energéticamente durante la producción de bio-hidrógeno (Bio-H<sub>2</sub>) es el pretratamiento de sustratos. La accesibilidad de las fuentes de carbono es fundamental para una mejor digestibilidad por los microorganismos, y un mayor rendimiento de producción de Bio-H<sub>2</sub>. Con respecto a lo anterior, se ha utilizado la Molienda Mecánica de Alta Energía (MMAE) como un método rápido, barato y amigable con el ambiente para generar sustratos con altos contenidos de Azúcares Reductores (AR) [1]. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la producción de Bio-H<sub>2</sub> por fermentación oscura de AR obtenidos por MMAE de papa (*Solanum tuberosum*).

**Metodología.** Las muestras de papa fueron tratadas en un molino planetario de bolas (Pulverisette 7) a diferentes tiempos (5, 10, 20, 30, 40 min). La cuantificación de AR de los productos fue determinada por la técnica DNS [2]. Durante la fermentación oscura por *Escherichia coli* se evaluó el crecimiento microbiano por densidad óptica (espectrofotómetro UV-Vis, 600 nm), pH y potencial Redox; ORP (SM-25CW). El gas generado se hizo pasar por una solución de NaOH para eliminar el contenido de CO<sub>2</sub>. El volumen de Bio-H<sub>2</sub> fue medido por el desplazamiento del agua dentro una probeta invertida en recipiente de agua. La velocidad máxima específica de crecimiento ( $\mu$ ) fue determinada con el modelo SGompertz (Origin Pro 8.6). La producción de ácidos orgánicos fue determinada por Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

**Resultados.** A los 30 min de molienda se obtuvo la mayor concentración de AR, 3.5 veces mayor que las muestras sin tratamientos. Por lo tanto, fue usada como fuente de carbono durante la fermentación. La  $\mu$  y el rendimiento de producción de Bio-H<sub>2</sub> por AR fue de 0.67 h<sup>-1</sup> - 66.4 cm<sup>3</sup>/g y 0.46 h<sup>-1</sup> - 53.7 cm<sup>3</sup>/g para glucosa y papa molida, respectivamente. El seguimiento de la fermentación por RMN (Fig. 2) reveló que la presencia de los ácidos orgánicos en el medio tiene una fuerte influencia en el pH y en el equilibrio Redox, especialmente en los ácidos succínico y acético. También se puede ver que la producción de Bio-H<sub>2</sub> está limitada inicialmente por la formación de ácido fórmico.



**Fig. 1.** Monitoreo de la fermentación de papa por *E. coli*. Cinética de crecimiento (negra), pH (roja), potencial redox (verde) y volumen de Bio-H<sub>2</sub> (azul).



**Fig. 1.** Espectros de RMN del medio de cultivo de papa a diferentes tiempos de fermentación.

**Conclusiones.** La MMAE aumento 3.5 veces el contenido de azúcares fermentables del sustrato. Por lo tanto, tiene potencial aplicación como pretratamiento de sustratos para mejorar la producción de Bio-H<sub>2</sub> por fermentación oscura. Sin embargo, la producción de Bio-H<sub>2</sub> está limitada por la formación de ácidos orgánicos durante la fermentación.

**Agradecimiento.** Los autores agradecen el financiamiento proporcionado por CONACyT, PN 2015-1847.

### Bibliografía.

- Juarez-Arellano, E. A., et al. (2019). Starch-Stärke, 71(5-6), 1800206.
- Miller G. L. Anal. Chem. 1959, 31, 426-428.





## Enterococcus faecalis DB5 PERFORMANCE FOR LACTIC FERMENTATION IN AN OPEN STIRRED TANK BIOREACTOR.

<sup>1</sup>Fukuda Daisuke, <sup>2</sup>Carvajal-Zarrabal Octavio, <sup>3</sup>Navarro-Moreno Leticia Guadalupe, <sup>3</sup>Jesús Carrillo-Ahumada, <sup>3</sup>Aparicio-Sanguilán Alejandro, <sup>3</sup>García-Gómez Ma. de Jesús, <sup>4</sup>Mohammad Omar Abdullah, <sup>\*3</sup>Nolasco-Hipólito Cirilo

<sup>1</sup>Medical Affairs, Merck Research Laboratories, MSD K. K., Chiyoda-ku, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Área de Bioquímica y Química de la Nutrición, Universidad Veracruzana, SS Juan Pablo II s/n, Boca del Río, CP 94294 Veracruz, Méx..

<sup>3</sup>Scientific Research Center, Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec, Tuxtepec, Oaxaca, México

<sup>4</sup>Department of Chemical Engineering & Energy Sustainability, Faculty of Engineering, Universiti Malaysia Sarawak (UNIMAS), 94300, Kota Samarahan, Sarawak, Malaysia.

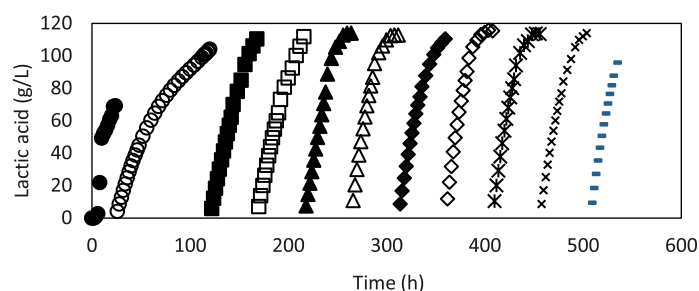
\*Corresponding author

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, Lactic acid Fermentation, Sucrose.

**Introduction.** Reducing the production cost of Lactic acid fermentation (LAF) is always of interest in industrial developments (Manandhar and Shah 2020). *Enterococcus faecalis* DB5 is a newly Lactic Acid Bacteria (LAB) producing microorganism isolated from Japanese mandarin. This work aimed to use sucrose from sugarcane as substrate through fermentation using *Enterococcus faecalis* DB5 to produce lactic acid. Sugarcane is a raw material abundant in the Papaloapan region. Thus, diversification of its industrial use is needed.

**Methodology.** LAF was carried out in a 5L open stirred tank bioreactor using 4L as working volume. Batch mode was used for the first cycle and then switched to Repeated Batch Fermentation. 1L volume of fermented broth was centrifuged at 6000rpm for 10 min. Then, the pellet was reused for the next cycle in a fresh medium. This procedure was repeated for each subsequent cycle (Nolasco-Hipolito et al. 2012). The Agitation and the temperature were fixed at 300rpm, and 45°C, respectively. The pH was controlled a 6.8 by direct titration (Nolasco-Hipolito et al. 2019). The 1<sup>st</sup> fermentation cycle contained 25 g/L of sucrose and five g/L of yeast extract (YE) (Difco, MD). The fermentation medium was the same as the inoculum, only that the sucrose concentration was 125 g/L. Cell Dry weight was estimated by a calibration curve from the optical density against Cell Dry Weight.

**Results.** The results are expressed in terms of LA produced. Fig. 1 shows that the LA concentration was similar in the 10 cycles. The LA concentration average was  $112.2 \pm 0.34$  g/L when the biomass concentration was stable. The total amount of LA produced was  $4.83 \pm 0.015$  kg, corresponding to a conversion rate of  $0.94 \pm 0.013$ . The biomass harvested from the 1st cycle was recycled for the second cycle, and so on. The fermentations were terminated at 48 h, except for the first cycle run for 24 h. The strain DB5 can produce around 100 g/L of LA in 24h, which corresponds to volumetric productivity of 4.2 g/Lh. However, the productivity decreased to 2.33 g/Lh from 24 to 48 h. Therefore, it took an additional 24 h to increase the LA concentration from 100 g/L to 112 g/L, and this is unfavorable from an economic point of view.



**Fig. 1.** Kinetics of LA production in sucrose based medium for 11 fermentation cycles. Symbols: ● 1<sup>st</sup>, ○ 2<sup>nd</sup>, ■ 3<sup>rd</sup>, □ 4<sup>th</sup>, ▲ 5<sup>th</sup>, △ 6<sup>th</sup>, ◆ 7<sup>th</sup>, ◇ 8<sup>th</sup>, \* 9<sup>th</sup>, × 10<sup>th</sup>; - 11<sup>th</sup> cycles.

Table 1 summarizes the kinetic parameters of the system in repeated batch fermentation mode. The amount of sucrose used for the fermentation for 11 fermentation cycles was 5.1 kg. *Enterococcus faecalis* DB5 was able to convert around 94% of this substrate to LA. The volumetric productivity was 2.33 g/Lh during the fermentation in 48 h. The productivity can be enhanced when the fermentation is only for 24h.

**Table 1.** Overall Kinetic parameter of LAF *E. faecalis* and sucrose as substrate

Parameter	Value
Sucrose fed (g)	5000.0
Lactate produced (g/L)	$113.8 \pm 3.4$
Total LA produced (g)	$4824 \pm 14.7$
Volumetric productivity (g/Lh)	2.33
Lactate Yield (g LA/g glucose)	$0.94 \pm 0.003$
Biomass Yield (g cells/g glucose)	$0.036 \pm 0.01$

**Conclusions.** *Enterococcus faecalis* DB5 strain metabolizes sucrose efficiently with high conversion rate. Fermenting at 45 °C, did not affect the productivity of the strain a reduce the risk of contamination. Due to sucrose is abundant in Papaloapan region there are opportunities to diversify its industrial use to a higher value added product as LA.

### References

- Manandhar, Ashish, and Ajay Shah. 2020. "Techno-Economic Analysis of Bio-Based Lactic Acid Production Utilizing Corn Grain as Feedstock." *Processes* 8(2): 199. <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/2/199>.
- Nolasco-Hipolito, Cirilo et al. 2012. "Lactic Acid Production by *Enterococcus Faecium* in Liquefied Sago Starch." *AMB Express* 2(1): 53.
- Nolasco-Hipolito, C et al. 2019. "Scaling up of Lactic Acid Fermentation Using *Enterococcus Faecalis*." *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 495: 012049. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/495/1/012049>.