EFECTO DE PREBIOTICOS Y ALBEDO DE NARANJA SOBRE PARAMETROS CINÉTICOS Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA DE BACTERIAS ÁCIDO LACTICAS TERMOTOLERANTES

EFFECT OF PREBIOTICS AND ORANGE ALBEDO ON KINETICS PARAMETERS AND SHORT CHAIN FATTY ACIDS PROFILE OF THERMOTOLERANT LACTIC ACID BACTERIA

Díaz-Vela J.1, Mayorga-Reyes L.2, Totosaus A.3 y Pérez-Chabela M. L.4

1Departamento de Biotecnología; Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D. F. C.P. 09340. 2Sistemas Biológicos; Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, México D. F. 3 Laboratorio de Ciencia de los Alimentos; Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, México. \* e-mail: lpch@xanum.uam.mx

**ABSTRACT**

Prebiotics are substances obtained from vegetable resources that are mainly digestible in colon by the intestinal flora. Inulin and orange albedo are carbon sources that have been employed due to their prebiotic effect enhancing benefic microbial flora. 12 h batches fermentation were performed with two lactic acid bacteria, *P. pentosaceus* y *Aerococcus viridans*, employing chicory or agave inulin, or orange albedo, as carbon source at different concentrations of 0.5, 1.0 and 1.5% (w/v), against glucose as control. For both strains, maximum growth was observed with 1.0% chicory inulin, being lactic acid the major metabolite produced. With 1.0% orange albedo, both strains showed shorter duplication time, and a higher lactic, acetic and butyric acids production. The use of orange albedo in comparison to the employed inulins as alternative carbon source (prebiotic), at the actual experimental conditions, improved the lactic acid bacteria development and the short chain fatty acids production.

**Key words**: prebiotics, inulin, orange albedo, lactic acid bacteria, short chain fatty acids.

**RESUMEN**

Los prebióticos son sustancias obtenidas de fuentes vegetales, las cuales son digeribles solo en el colon donde se sitúa el mayor número de la flora intestinal. La inulina y el albedo de naranja son fuentes de carbono que han sido empleados por su efecto prebiótica en distintos alimentos proporcionando beneficios al aumentar la flora microbiana benéfica. Se realizaron fermentaciones de 12 h con dos bacterias ácido lácticas, *Pediococcus pentosaceus* y *Aerococcus viridans*, utilizando inulina de achicoria o de agave, o albedo de naranja, como fuente de carbono en concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5% (p/v), contra glucosa como control. Para ambas bacteria, el mayor crecimiento fue con inulina de achicoria al 1.0%, siendo el ácido láctico el mayor metabolito producido. Con albedo de naranja al 1.0%, las dos cepas mostraron un menor tiempo de duplicación, además de una mayor producción de ácido láctico, acético y butírico. La utilización de albedo de naranja en comparación con las inulinas utilizadas como fuente alterna de carbono (prebiótico), a las actuales condiciones experimentales, mejoró el desarrollo de las bacterias lácticas, así como la producción de ácidos orgánicos.

**Palabras clave**: prebióticos, inulina, albedo naranja, bacterias lácticas, ácidos grasos de cadena corta.

**INTRODUCCIÓN**

Los prebióticos han sido definidos como ingredientes alimenticios no-digeribles que afectan benéficamente al huésped por estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon, generando beneficios a la salud (1). Recientemente han redefinido el concepto de prebiótico como un ingrediente fermentable selectivo que permite cambios específicos, además de conferir beneficios sobre la composición y/o actividad de la microflora gastrointestinal (2). Los ingredientes prebióticos se consideran además parte de aquellos alimentos funcionales que pueden modificar de manera positiva los procesos fisiológicos y biológicos en la nutrición ó como auxiliares en el tratamiento de enfermedades humanas (3). Los prebióticos deberán ser fermentados únicamente por bacterias del colon, promoviendo algunas funciones fisiológicas especificas a través de la liberación de metabolitos por las bacterias, en especial los ácidos grasos de cadena corta al lumen intestinal (4). Las bacterias del colon presentan diferentes grados de fermentación dependiendo de los carbohidratos que vayan a metabolizar, donde aquellos carbohidratos con un bajo nivel de polimerización son metabolizados de una forma más efectiva aun por encima de azucares como la glucosa. Durante la fermentación de ingredientes prebióticos por parte de los probióticos en el colon mejoran la producción de ácidos grasos de cadena corta, como butírico, acético y propiónico, los cuales son rápidamente absorbidos. El butirato es la mayor fuente de energía para los colonocitos, el propionato es mayormente absorbido por el hígado, y el acetato entra en periférica para ser metabolizado por tejidos periféricos. Estos ácidos grasos de cadena corta pueden reducir el riesgo de desarrollar desordenes gastrointestinales, cáncer y enfermedades cardiovasculares (5).

Dentro de los ingredientes prebióticos, la inulina ha sido de las utilizadas. La resistencia al proceso digestivo, además de ser considerada como fibra dietética, además, de ser un compuesto que mediante estudios in-vitro e in-vivo resulta efectivo sobre el crecimiento de la microflora intestinal, disminuyendo microorganismos patógenos como clostridium, donde en algunos tratamientos se incremento la relación de butirato indicando un cambio en la actividad bacteriana (6). Por otro lado, el albedo es un tejido alto en fibra que se encuentra en diversas frutas cítricas, es de color blanco y esponjoso localizado en la cáscara. Este material puede ser considerado como ingrediente funcional debido al contenido de fibra además de ser una buena fuente de oligosacaridos pecticos con actividad prebiótica (7).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de diferentes fuentes de carbono, inulina de agave o achicoria, o albedo de naranja, sobre los parámetros cinéticos y el perfil de ácidos grasos de cadena corta, de dos bacterias ácido lácticas, *P. pentosaceous* y *A. viridians*.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

**Obtención de muestras**

La inulina de achicoria e inulina de agave se obtuvieron de Nano Nutrition S.R.L. de C.V. (Naucalpan, México). El albedo de naranja se obtuvo de acuerdo a la metodología reportada por Durán y Mendoza y col. (8). El albedo (parte blanca y esponjosa) se retiró manualmente de cascaras de naranjas, eliminando la limonina con una solución de NaCl al 15% a 95°C por 30 min. Posteriormente se secó en una estufa a 60 °C durante 24 h, trituró, tamizó y almacenó al vacío a temperatura ambiente hasta su análisis y utilización.

**Análisis proximal**

A las muestras de albedo de naranja, inulina de agave e inulina de achicoria se les determinó la humedad (Método Oficial 925.40), proteína total (Método Oficial 960.52), pH (Método Oficial 994.18), cenizas (Método Oficial 940.18), extracto etéreo como grasa total (920.26) y fibra total (Método Oficial 985.29), de la AOAC (9).

**Preparación del inoculo**

Las cepas utilizadas, *Pediococcus pentosaceus* y *Aerococcus viridans*, previamente identificadas como bacterias lácticas termotolerantes y probióticas (10), se reactivaron en caldo MRS (11) incubando a 37 °C durante12 h. Después de este paso, se realizó la adaptación de las bacterias en medio de cultivo tripticasa de soya, peptona y extracto de levadura (TPY, por las siglas en ingles de Trypticase-Peptone-Yeast) (12), incubando a 37°C durante 12 h a pH 6.5. El inoculo se preparó al transferir a medio TPY una alícuota (2 mL) de los tubos de bacterias activadas, incubando a 37°Cdurante 12 h a 200 rpm.

**Cinética del crecimiento y pH**

Las fermentaciones se realizaron de acuerdo a la metodología propuesta por Bustamante y col. (13), utilizando medio TPY suplementando con 0.5, 1.0 y 1.5 % (p/v) de albedo de naranja, inulina de agave, inulina de achicoria ó glucosa como control. Se inocularon aproximadamente 3 log10 UFC/mL en matraces de fermentación a una temperatura de 37 °C y una agitación de 200 rpm. Se tomaron alícuotas (2 mL) a partir del tiempo cero hasta completar 12 h de fermentación con intervalos de una hora para la determinación del crecimiento bacteriano (conteo en placa de agar TPY incubadas a 37 °C durante 24 h, reportando UFC/mL) y pH. Se calculó la tasa específica de crecimiento “k” y tiempo de duplicación “g” (como el inverso de “k”) (14), como medidas de la capacidad de adaptación de las bacterias de las diferentes fuentes de carbono, de acuerdo a:

****

Donde:

Nt= número final de células (UFC/mL)

N0= número inicial de células (UFC/mL)

t= tiempo de fermentación (h)

**Producción de ácidos grasos de cadena corta**

Para la determinación de ácidos grasos de cadena corta, se tomaron alícuotas de 2 mL a los tiempos 0, 6 y 12 h de fermentación. El análisis se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Manderson y col. (15), con algunas modificaciones. Para el análisis del ácido láctico se utilizó cromatografía de líquidos HPLC modelo 250 (Perkin Elmer, Norwalk) en una columna Resex Organic Acids (7.8 x 300 mm), detector de índice de refracción, y ácido sulfúrico (0.5 mN) como fase móvil a un flujo isocrático de 0.6 mL/min y una temperatura de 50 °C. Para el análisis del ácido acético, propiónico y butírico se llevó a cabo mediante cromatografía de gases HP 5890 Series II (Perkin Elmer, Shelton) utilizando una columna AT-1000 (10 m x 0.250 mm), detector de ionización de flama, N2 como gas de arrastre, un flujo de 1mL/min y una rampa de temperatura (90-120°C @ 5°/min).

***Análisis estadístico***

Para el análisis del efecto de los tratamientos utilizados se aplicó un diseño factorial completo de dos factores: fuente de carbono (albedo de naranja, inulina de agave ó inulina de achicoria) y la concentración de estos como fuente alternativa de carbono (0.5, 1.0 y 1.5 %). Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa SPSS para Windows Versión 15. La diferencia entre medias en la determinación de los parámetros fisicoquímicos se llevó a cabo mediante un análisis de medias de Tuckey (α= 0.05) con el mismo paquete estadístico.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Análisis proximal**

La Tabla 1 muestra los resultados del análisis proximal y microbiológico para albedo de naranja, inulina de agave e inulina de achicoria. El albedo de naranja tuvo mayor contenido de humedad que las inulinas. Las diferentes condiciones de temperatura y el tiempo de secado, además de las diferencias intrínsecas de la materia prima, influyeron directamente sobre la liberación del agua, provocando en algunos casos el efecto de endurecimiento de los residuos impidiendo la liberación óptima de agua (16). Con respecto al pH de las muestras, el valor más bajo (P<0.05) se obtuvo con albedo de naranja, debido probablemente al contenido de ácidos orgánicos en cítricos (17). El contenido de cenizas más bajo (P<0.05) se observó en inulina de agave (0.15 %), mientras que el albedo de naranja tuvo el mayor porcentaje (4.99 %). El contenido de cenizas está relacionado con la concentración de calcio en albedo de naranja, donde el calcio varía de acuerdo al estado de madurez de este tipo de frutos cítricos (18). Respecto al extracto etéreo, el albedo de naranja tuvo valores mayores (P<0.05) que las inulinas, debido probablemente a la presencia de ceras epicuticulares de la cascara en este tipo de frutos cítricos (19). El contenido de proteína fue mayor para la inulina de agave y menor para el albedo de naranja con valores de 1.02 y 0.58 %, respectivamente. El comportamiento de este parámetro pudo ser debido a la naturaleza de las muestras, su estado de maduración y al contenido de glucoproteínas presentes en la pared celular primaria en donde estas forman estructuras con la celulosa (20). El mayor contenido de fibra total (P<0.05) se presentó con el albedo de naranja con 55.72%, estos resultados son probablemente a que la naranja presenta celulosa, hemicelulosa y lignina dentro de su composición, siendo estos compuestos una fuente de fibra insoluble (21).

**Cinética del crecimiento en las diferentes fuentes de carbono**

La capacidad de adaptación al medio de cultivo por parte de las bacterias analizadas se vio reflejada en los parámetros de tasa específica de crecimiento y el tiempo de duplicación. La Tabla 2 muestra los resultados para *P. pentosaceus* con los diferentes tipos y concentraciones de fuentes de carbono. La tasa específica de crecimiento fue significativamente mayor (P<0.05) al utilizar albedo de naranja e inulina de achicoria a concentraciones de 0.5 y 1.5%. De este modo, los tiempos de duplicación fueron significativamente (P<0.05) menores para estos sustratos. Al comparar contra glucosa a una concentración del 1.0%, albedo de naranja tuvo los valores significativamente (P<0.05) mayores de crecimiento (1.46 h-1), seguidos de inulina de agave (1.29 h-1), y con valores de duplicación menores (0.69-0.78 h) que con glucosa o inulina de achicoria (0.91-0.92 h). Los valores de la tasa especifica de crecimiento y de tiempo de duplicación fueron significativamente (P<0.05) mayores al 1.0% de fuente de carbono.

La Tabla 3 muestra los resultados de parámetros de crecimiento para *A. viridans*. A concentraciones de 0.5 de fuente de carbono no hay diferencia significativa (P>0.05), y a concentraciones de 1.5% los valores de g fueron significativamente (P<0.05) mayores para inulina de achicoria en comparación con inulina de agave o albedo de naranja, aunque con un traslape de medias entre las dos inulinas. Al utilizar 1.0% de fuente de carbono, albedo de naranja e inulina de achicoria tuvieron valores significativamente (P<0.05) mayores de g (1.44 y 1.40 h-1, respectivamente), y por lo tanto, valores significativamente (P<0.05) menores de tiempo de duplicación (0.70 h), en comparación con glucosa o inulina de agave. Los valores de la tasa especifica de crecimiento y de tiempo de duplicación fueron significativamente (P<0.05) mayores al 1.0% de fuente de carbono.

La Figura 1 muestra las curvas de crecimiento celular y pH para las bacterias lácticas utilizadas para las diferentes fuentes de carbono al 1%. De manera general, se observaron diferencias en las curvas de crecimiento y disminución del pH para ambos microorganismos al cambiar la fuente de carbono. El acortamiento de las fase lag al utilizar otras fuentes de carbono diferentes a la glucosa indican la degradación de los compuestos disponibles en albedo de naranja, inulina de agave o inulina de achicoria *P. pentosaceous* y *A. viridans*. La continuidad de las curvas de crecimiento muestran una fase exponencial prolongada, sin transiciones que indiquen un crecimiento diáxico o poliáuxico, lo que indica la continuidad en el consumo de sustrato para la producción de biomasa (22), además de la no necesidad de una fase de inducción para el consumo de estos sustratos, por lo que son igual de buenos que la glucosa para soportar el crecimiento (23). La corta duración de la fase de adaptación con inulina y albedo de naranja refleja una óptima adaptación al medio de cultivo tanto con *P. pentosaceus* como con *A. viridans*, resaltando una diferencia entre ambas cepas respecto a la velocidad de crecimiento y número de células viables durante el experimento, lo cual se relaciona con lo reportado por Kaplan y Hutkins (23) donde muestran que existe diferencia de crecimiento bacteriano entre diferentes cepas (*Bifidobacterium* y *Lactobacillus*) al utilizar fructooligosacáridos como fuente de carbono. Los valores mayores para k y g al cambiar la fuente de carbono corroboran la capacidad fermentativa de frutooligosacáridos y/o pectinas por estas bacterias lácticas. La composición de la fuente de carbono tiene efecto marcado sobre la acidificación (disminución de pH por la producción de ácidos orgánicos volátiles y ácido láctico) y crecimiento de probióticos (bifidobacterias o lactobacilos), donde el metabolismo fermentativo es más rápido con oligofructo-sacáridos que con inulinas, ya que éstas últimas al tener una mayor grado de polimerización tienen un prolongado efecto bifidogénico o prebiótico (24).

**Producción de ácidos grasos de cadena corta**

En la Tabla 4 se observa la producción de ácidos orgánicos de cadena corta para *P. pentosaceus* con diferentes las fuentes de carbono al 1%. Al inicio de la fermentación la producción de ácido láctico fue significativamente (P<0.05) mayor para glucosa como sustrato que con el resto de los ingredientes prebióticos. Este comportamiento se repitió a las 6 y 12 h de fermentación. La menor cantidad de ácido láctico producida por las diferentes fuentes de carbono utilizadas fue con las inulinas. En los ácidos grasos de cadena corta, al inicio de la fermentación el utilizar albedo de naranja resultó en valores significativamente mayores (P<0.05) que con el resto de los ingredientes prebióticos o glucosa, comportamiento que se observó a las 6 y 12 h de fermentación. La producción de propiónico fue significativamente mayor (P<0.05) con glucosa que con los ingredientes prebióticos durante los intervalos de muestreo de la fermentación. Finalmente, para el ácido butírico, la fermentación inulina de achicoria tuvo los valores significativamente mayores (P<0.05) al inicio y a las 6 y 12 h, en comparación con el resto de ingredientes prebióticos o glucosa como fuentes de carbono.

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la producción de ácidos orgánicos de cadena corta para las fermentaciones de *A. viridans* con las diferentes fuentes de carbono al 1%. Para este microorganismo, la producción de ácido láctico fue significativamente mayor (P<0.05) al utilizar inulina de achicoria al inicio, 6 y 12 h de fermentación. La producción de ácido acético fue significativamente mayor (P<0.05) con glucosa como fuente de carbono durante toda la fermentación que con los ingredientes prebióticos. La producción de ácido propiónico y ácido propiónico fue significativamente mayor (P<0.05) durante toda la fermentación con inulina de achicoria. Las inulinas de achicoria y agave tuvieron un mayor efecto en la producción de ácido propiónico y butírico. La adaptación a un medio pobre en monosacáridos confiere un metabolismo altamente adaptable a consumir oligo o polisacáridos, dando una ventaja competitiva a cierto tipo de bacterias, además de afectar fuertemente los productos de la fermentación, sobre todo en la producción de ácidos grasos de cadena corta (22).

**CONCLUSION**

El Albedo de naranja al 1% mostró un mayor crecimiento que cuando se utilizó inulinas. Se obtuvieron tiempos de generación menores utilizando albedo de naranja además de presentar una fase de adaptación más corta que con inulinas. El albedo de naranja puede ser un buen ingrediente funcional, ya sea como buena fuente de fibra o como prebiótico.

**AGRADECIMIENTOS**

Díaz-Vela agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México, por el otorgamiento de la beca No. 224727 para sus estudios de posgrado.

**REFERENCIAS**

1. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995; 125: 1401-1412.

2. Gibson GR, Probert HM, Van Loo JA, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. Nutr. Res. Rev. 2004; 17: 259-275.

3. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault M, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau M, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Brit. J. Nutr. 1998; 80: 147-171.

4. Cummings JI, Macfarlane GT, Englyst IN. Prebiotic digestion and fermentation. Am. J. Clin. Nutr. 2001; 73(2): 415- 420.

5. Hijova E, Chmelarova A. Short chain fatty acids and colonic health. Bratisl. Lek. Listy. 2007; 108(8): 354-358.

6. Roberfroid MB. Dietary fiber, inulin, and oligofructose. A review comparing by their physiological effects. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1993; 33: 103-148.

7. Hotchkiss AT, Olano-Martin E, Grace WE, Gibson GR, Rastall RA. Pectic oligosaccharides as prebiotics. Oligosaccharides in Food and Agriculture. Washington DC, Virginia: Estados Unidos de América: American Chemical Society; 2003. pp 54-62.

8. Durán-Mendoza T, Mendiola-Campuzano J.V.H., Urrieta-Saltijeral JM, Hernández-Vélez RM, Angulo-Guerrero O. Evaluación de la incorporación de fibra dietética procedente del bagazo de naranja en un embutido tipo longaniza. Memorias del IV Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología *de Alimentos*. Villahermosa, Tabasco: México. pp. 351-359. 2008

9. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC International. Washington DC, Virginia: Estados Unidos de America. 1999.

10. Ramírez-Chavarín NL, Wacher-Rodarte C, Pérez-Chabela ML Characterization and identification of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked sausages as bioprotective cultures. J. Muscle Foods. 2101; 21: 585-596.

11. De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME). A medium for the cultivation of lactobacilli. J. App. Bacteriol. 1960; 23: 130-135.

12. Muñoa FJ. Pares R. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp. App. Environ. Microbiol. 1988; 54, 1715-1718.

13. Bustamante P, Mayorga L, Ramírez H, Martínez P, Barranco E, Azaola A. Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. Rev. Mex. C. Farm. 2006; 37: 5-9.

14. Stanbury PF, Whitaker A, Hall SJ. Principles of Fermentation Technology. Oxford, Inglaterra: Butterworth Heinemann. 1995; pp. 13-31.

15. Manderson K, Pinart M, Tuohy KM, Grace WE, Hotchkiss AT, Widmer W, Yadhay MP, Gibson GR, Rastall RA. In vitro determination of prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by-product stream. App. Environ. Microbiol. 2005; 71: 8383-8389.

16. Garau MC, Simal S, Rosselló C, Femenia A. Effect of air-drying temperatura on physico-chemical properties of dietary fiber and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium v. Canoneta*) by-products. Food Chem. 2007; 104: 1014-1024.

17. Clements RL. Organic acids in citrus fruits. II. Seasonal changes in the orange. J. Food Sci. 1964; 29: 281-286.

18. Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C. Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. Agrociencia. 2002; 6: 1-16.

19. Storey R, Treeby MT. The morphology of epicuticular wax and albedo cells of orange fruit in relation to albedo breakdown. J. Hort. Sci. Biotechnol. 1994; 69: 329-338.

20. Carpita NC. Gibeaut DM. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. J. Plants. 1993; 3: 1-30.

21. Lario Y, Sendra E, García-Pérez J, Fuentes C, Sayas-Barberá E, Fernández-López, J, Pérez-Álvarez JA. Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. Inn. Food Sci. Emerg. Technol. 2004; 5: 113-117.

22. Rossi M, Corradini C, Amaretti A, Nicolini M, Pompei A, Zanoni S, Matteuzzi D. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. App. Environ. Microbiol. 2005; 71: 6150-6158.

23. Kaplan H, Hutkins RW. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. App. Environ. Microbiol. 2000; 66: 2682-2684.

24. Pompei A, Cordisco L, Raimondi S, Amaretti A, Pagnoni U, Matteuzzi D, Rossi M. In vitro comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. Anaerobe. 2008; 14: 280-286.

**Tabla 1**. Análisis proximal del albedo de naranja, inulina de agave e inulina de achicoria.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Albedo de naranja | Inulina de agave | Inulina de achicoria |
| Humedad (%) | 4.72± 0.42 a | 3.66± 0.34 b | 3.78± 0.12 b |
| Proteína (%) | 0.58± 0.03 c | 1.02± 0.07 a | 0.87± 0.08 b |
| pH | 4.28± 0.19 c | 6.44± 0.65 a | 5.13± 0.25 b |
| Cenizas (%) | 4.99± 0.46 a | 0.15±0.02 c | 0.61± 0.05 b |
| Extracto etéreo (%) | 2.12± 0.20 a | 1.96± 0.11 c | 1.33± 0.12 b |
| Fibra total (%) | 55.72± 2.96 a | 33.16± 2.26 b | 31.19± 1.53 b |

a,b,c Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente (P>0.05) diferentes

**Tabla 2**. Velocidad especifica de crecimiento (k) y tiempo de duplicación (g) para *P. pentosaceous* empleando diferentes fuentes de carbono.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fuente de carbono | Concentración (% p/v) | | | | | |
| 0.5 | | 1.0 | | 1.5 | |
| k (h-1) | g (h) | k (h-1) | g (h) | k (h-1) | g (h) |
| Glucosa | - | - | 1.10 c | 0.91 ª | - | - |
| Albedo de naranja | 1.24 a, B | 0.81 b, C | 1.45 ª, A | 0.69 c, D | 1.17 ab, B | 0.85 ab, C |
| Inulina de agave | 1.26 a, A | 0.80 b, C | 1.29 b, A | 0.78 b, C | 1.22 a, A | 0.82 b, C |
| Inulina de achicoria | 1.11 b, A | 0.90 a, C | 1.09 c, A | 0.92 a, C | 1.13 b, A | 0.88 a, C |

a,b,c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para la velocidad especifica de crecimiento (k) y tiempo de duplicación (g), respectivamente.

A, B Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para la velocidad especifica de crecimiento (k) para las diferentes concentraciones de la fuentes de carbono.

C, D Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para el tiempo de duplicación (g) para las diferentes concentraciones de la fuentes de carbono.

**Tabla 3**. Velocidad especifica de crecimiento (k) y tiempo de duplicación (g) para *A. viridans* empleando diferentes fuentes de carbono.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fuente de carbono | Concentración (%, p/v) | | | | | |
| 0.5 | | 1.0 | | 1.5 | |
| k (h-1) | g (h) | k (h-1) | g (h) | k (h-1) | g (h) |
| Glucosa | - | - | 1.10 c | 0.91 ª | - | - |
| Albedo de naranja | 1.26 a, A | 0.79 a, C | 1.25 b, B | 0.80 b, C | 1.23 ab, A | 0.81 b, C |
| Inulina de agave | 1.36 a, A | 0.73 a, C | 1.44 a, A | 0.69 c, D | 1.37 a, A | 0.73 b, C |
| Inulina de achicoria | 1.24 a, B | 0.80 a, D | 1.40 a, A | 0.71 c, D | 1.06 b, C | 0.95 a, C |

a,b,c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para la velocidad especifica de crecimiento (k) y tiempo de duplicación (g), respectivamente.

A, B Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para la velocidad especifica de crecimiento (k) para las diferentes concentraciones de la fuentes de carbono.

C, D Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para el tiempo de duplicación (g) para las diferentes concentraciones de la fuentes de carbono.

**Tabla 4**. Producción de ácidos grasos de cadena corta para *P. pentosaceus* con las diferentes fuentes de carbono al 1 % (w/v).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tiempo (h) | Fuente de carbono | Concentración (g/L) | | | |
| C3H6O3 | C2H2O2 | C3H6O2 | C4H8O2 |
| 0 | Glucosa | 0.900 a | 0.652 b | 0.141 a | 0.013 c |
| Inulina de agave | 0.003 c | 0.524 c | 0.113 b | 0.023 b |
| Inulina de achicoria | 0.002 c | 0.648 b | 0.125 b | 0.045 a |
| Albedo de naranja | 0.007 b | 1.002 a | 0.010 c | 0.009 c |
| 6 | Glucosa | 3.330 d | 0.740 f | 0.232 d | 0.052 d |
| Inulina de agave | 2.858 e | 0.738 f | 0.217 d | 0.030 e |
| Inulina de achicoria | 1.563 f | 0.815 e | 0.182 e | 0.057 d |
| Albedo de naranja | 1.246 g | 1.012 d | 0.013 f | 0.024 f |
| 12 | Glucosa | 4.280 A | 0.747 C | 0.257 A | 0.056 C |
| Inulina de agave | 2.273 C | 0.815 B | 0.230 B | 0.036 D |
| Inulina de achicoria | 2.271 C | 0.897 A | 0.227 B | 0.084 A |
| Albedo de naranja | 3.680 B | 1.120 D | 0.026 C | 0.069 B |

Ácidos: láctico (C3H6O3), acético (C2H2O2), propiónico (C3H6O2) y butírico (C4H8O2)

a,b,c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 0 h con las diferentes fuentes de carbono.

d, e, f, g Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 6 h con las diferentes fuentes de carbono.

A, B, C, D Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 12 h con las diferentes fuentes de carbono.

**Tabla 5**. Producción de ácidos grasos de cadena corta para *A. viridans* con las diferentes fuentes de carbono al 1 % (w/v).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tiempo (h) | Fuente de carbono | Concentración (g/L) | | | |
| C3H6O3 | C2H2O2 | C3H6O2 | C4H8O2 |
| 0 | Glucosa | 0.013 bc | 1.932 a | 0.605 b | 0.073 c |
| Inulina de agave | 0.023 b | 0.084 b | 0.677 a | 0.241 a |
| Inulina de achicoria | 0.045 a | 0.035 c | 0.530 b | 0.161 b |
| Albedo de naranja | 0.009 c | 0.001 d | 0.671 a | 0.026 d |
| 6 | Glucosa | 0.013 g | 1.932 e | 0.605 f | 0.073 g |
| Inulina de agave | 0.023 f | 0.084 f | 0.677 e | 0.241 e |
| Inulina de achicoria | 0.045 e | 0.035 g | 0.530 g | 0.161 f |
| Albedo de naranja | 0.009 h | 0.001 h | 0.671 e | 0.026 h |
| 12 | Glucosa | 0.056 C | 4.315 A | 0.631 D | 0.163 C |
| Inulina de agave | 0.036 D | 3.331 B | 0.998 A | 0.304 A |
| Inulina de achicoria | 0.084 A | 1.936 C | 0.713 C | 0.229 B |
| Albedo de naranja | 0.069 B | 1.837 C | 0.809 B | 0.117 C |

Ácidos: láctico (C3H6O3), acético (C2H2O2), propiónico (C3H6O2) y butírico (C4H8O2)

a,b,c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 0 h con las diferentes fuentes de carbono.

d, e, f, g Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 6 h con las diferentes fuentes de carbono.

A, B, C, D Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente (P>0.05) diferentes para cada ácido graso de cadena corta al tiempo de fermentación 12 h con las diferentes fuentes de carbono.

**Figura 1**. Cinéticas de crecimiento y descenso de pH para (a) *P. pentosaceous* y (b) *A. viridans* empleando diferentes fuentes de carbono: (●) glucosa, (■) inulina de agave, (▲) inulina de achicoria, o (♦) albedo de naranja (pH en símbolos blancos).