



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE LA
VAINA DE MEZQUITE PARA FOMENTAR SU
VALOR AGREGADO**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

I.B.P. DIANA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LUZ MARÍA TERESITA PAZ MALDONADO

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Ingeniería de Biorreactores de la Facultad de Ciencias
Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Con financiamiento de:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) PROYECTO: 257616
Beca-Tesis del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): 956734.

“El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad
Autónoma de San Luis Potosí, pertenece al Programa Nacional de Posgrados
de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 000588, en el Nivel Consolidado de
Maestría”

Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 956734



Fermentación alcohólica de la vaina de mezquite para fomentar su valor
agregado by Diana Hernández Martínez is licensed under a [Creative Commons
Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE LA
VAINA DE MEZQUITE PARA FOMENTAR SU
VALOR AGREGADO**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

I.B.P. DIANA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LUZ MARÍA TERESITA PAZ MALDONADO

SINODALES:

PRESIDENTE:

DRA. LUZ MARÍA TERESITA PAZ MALDONADO

SECRETARIO:

DRA. RUTH ELENA SORIA GUERRA

VOCAL:

DR. MARIANO DE JESÚS GARCÍA SOTO

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

JUNIO, 2021

Agradecimientos Académicos

- ✧ A la **Dra. Luz María Teresita Paz Maldonado**, por la confianza, apoyo incondicional, tolerancia, paciencia, por su entusiasmo hacia el proyecto, por estar más que al pendiente a todas las necesidades y por hacer de la estancia en su equipo de trabajo una experiencia inigualable.

- ✧ Al **Dr. Luis Martínez Salgado**, por la confianza y apoyo desde licenciatura para la realización de este proyecto.

- ✧ Al **Dr. Omar González Ortega, Dra. Ruth Elena Soria Guerra, Dr. Mariano de Jesús García Soto, M.C. María del Refugio Pérez Barba, I.A Gloria Sosa Mendoza y la Dra. Ana Silvia Pérez M**, por el apoyo, los comentarios, sugerencias, retroalimentaciones y aportaciones en cada una de las etapas del proyecto.

- ✧ A la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí y a la Facultad de Ciencias Químicas** por haber sido parte del desarrollo del proyecto y de mi crecimiento académico. Así como a todos mis profesores de maestría, por contribuir con todo el aprendizaje obtenido.

- ✧ Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca número 956734 y el financiamiento por parte del proyecto 57616.

Agradecimientos Personales

- ☞ **Agradezco a Dios** por permitirme llegar hasta este punto de mi vida gozando de una buena salud, con una familia unida y amorosa, de una pareja incondicional, con excelentes amigos y personas maravillosas que suman cosas buenas en mi vida.
- ☞ **A mis padres** por su apoyo incondicional y motivación. Por ser mí guía cuando me siento perdida. Gracias a ellos he logrado cumplir cada una de mis metas y sueños hasta el momento.
- ☞ **A mi madre, Ilda** que ha sido mi inspiración, mi soporte, quien me ha forjado y jamás ha permitido que me dé por vencida.
- ☞ **A mi padre, Nivardo** por sus consejos, por siempre estar alerta de mí, cuidarme y velar para que siempre este bien.
- ☞ **A mis hermanos, Edith y Oziel** por escucharme, aconsejarme, por resetear los días malos e intercambiarlos por risas. Por hacer que la distancia duela menos en los días malos, porque verlos y hablar con ellos lo cambia todo para bien.
- ☞ **A mi sobrino, Emiliano** quien inyecta felicidad, energía y alegría a mis días.
- ☞ **A mi novio, Andrés** quien ha estado a mi lado en los días buenos y malos, por su apoyo, comprensión, retroalimentaciones y aportaciones en todo momento durante este trayecto.
- ☞ **A mi compañera y amiga, Susán** por ser mi cómplice, por hacer de este viaje de 2 años y medio más ameno y sencillo. Definitivamente me llevo una gran amistad que fue incondicional en todo momento.

RESUMEN

El mezquite en México constituye uno de los recursos forestales y flora nacional más importantes del norte de México. Las vainas son el fruto del mezquite, estas cuentan con un alto contenido de carbohidratos. Los productos que actualmente se generan de la vaina derivan de procesos artesanales en donde no existe un control de las condiciones de operación. Es una materia prima que se utiliza escasamente, en su mayoría se considera desperdicio orgánico, o bien se limita a ser utilizada como alimento de ganado. El objetivo de este trabajo consistió en el aprovechamiento del uso de vaina de mezquite en procesos fermentativos para la producción de bebidas alcohólicas como la cerveza artesanal y productos bioenergéticos como el bioetanol.

Se inició con la obtención de la harina de vaina de mezquite (HVM) y el extracto de vaina de mezquite (EVM) mediante una molienda, procesamiento y su posterior análisis bromatológico para detectar su composición química y contenido de nitrógeno. Para la etapa de fermentación para la producción de bioetanol se utilizaron 6 grupos experimentales, grupo 1 y 2: control (HVM o EVM); grupo 3 y 4: HVM o EVM fortificado con una fuente orgánica de nitrógeno y grupo 5: HVM o EVM fortificada con una fuente inorgánica de nitrógeno. Con base a los resultados se realizó un diseño experimental Box-Behnken 3³ para definir las condiciones de operación que favorecieran al sistema para su posterior traslado a nivel biorreactor.

En el caso de la producción de una cerveza artesanal se realizó conforme a un estilo de cerveza que favorece la percepción de las notas frutales del mezquite. Se obtuvieron 2 productos: cerveza sin adición y con adición de EVM. Los productos fueron sometidos a un proceso de análisis sensorial y contenido polifenólico. Los resultados sugieren el uso de vainas de mezquite como materia prima prometedora en procesos biotecnológicos debido a su composición nutricional.

Palabras clave: bioetanol, Box-Behnken, cerveza artesanal, fermentación alcohólica, *Prosopis leavigata*, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Mesquite in Mexico constitutes one of the most important forest resources and national flora in northern Mexico. The pods are the fruit of the mesquite, they have a high sugar content. The products that are currently generated from the pod are derived from artisanal processes where there is no control of the operating conditions. It is a raw material that is rarely used, most of it is considered organic waste, or it is limited to being used as livestock feed. The objective of this work consisted of taking advantage of the use of mesquite pod in fermentative processes to produce bioethanol and beer-based beverages such as craft beer and bioenergetic products such as bioethanol.

It began with obtaining mesquite pod flour (HVM) and mesquite pod extract (EVM) through grinding, processing and subsequent bromatological analysis to detect their chemical composition and nitrogen content. For the fermentation stage for the production of bioethanol, it will be used in 6 experimental groups, group 1 and 2: control (HVM or EVM); group 3 and 4: HVM or EVM fortified with an organic nitrogen source and group 5: HVM or EVM fortified with an inorganic nitrogen source. Based on the results, a Box-Behnken 33 experimental design was carried out to define the operating conditions that would favor the system for its subsequent transfer to the bioreactor level.

In the case of the production of a craft beer, it was carried out according to a style of beer that favors the perception of the fruity notes of mesquite. Two products were obtained: beer without addition and with addition of EVM. The products were subjected to the organoleptic test and polyphenolic analysis. The results suggest the use of mesquite pods as a promising raw material in biotechnological processes due to its nutritional composition.

Keywords: bioethanol, Box-Behnken, craft beer, alcoholic fermentation, *Prosopis leavigata*, *Saccharomyces cerevisiae*.

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN	12
II.- MARCO TEÓRICO	15
2.1. Fermentación alcohólica	15
2.1.1. Factores que influyen en la producción de bioetanol al utilizar <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
2.2. Aplicaciones del bioetanol	18
2.2.1. El bioetanol en la industria de las bebidas alcohólicas	18
2.2.2. El bioetanol como combustible	21
III.- JUSTIFICACIÓN	23
IV.- HIPÓTESIS.....	23
V.- OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS.....	23
VI.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
6.1. Recolección de la materia prima y pretratamiento	24
6.2. Cuantificación y caracterización de los carbohidratos presentes en la harina y extracto de vaina de mezquite	24
6.3. Cuantificación del contenido de nitrógeno	25
6.4. Microorganismos utilizados.....	25
6.5. Medios de cultivo	25
6.6. Determinación de una fuente de carbono y nitrógeno	25
6.7. Diseño de experimentos Box-Behnken.....	25
6.8. Traslado de las condiciones a un reactor en lote.....	26
6.9. Producción de cerveza artesanal.....	26
6.11.1. Análisis sensorial de la cerveza	27
6.11.2. Determinación de polifenoles totales	27
VII. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
7.1. Variación en el contenido de carbohidratos y nitrógeno presentes en la HVM y el EVM	28
7.2. La concentración de bioetanol obtenida es reproducible a nivel biorreactor	30
7.3. La cerveza artesanal de mezquite posee un porcentaje de alcohol acorde al estilo de cerveza Blonde Ale y califica como excelente con base en el análisis organoléptico	30

IX. BIBLIOGRAFÍA31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del mezquite por regiones en México.	3
Figura 2. Variantes A, B y C de vainas de <i>Prosopis leavigata</i> en el Altiplano Potosino de México.	4
Figura 3. Metabolismo fermentativo en las levaduras	7
Figura 4. Proceso de lavado, desinfección, selección y secado de la vaina de mezquite	16
Figura 5. Descripción de los ensayos de fermentación para la producción de bioetanol	20
Figura 6. Proceso de producción de cerveza estilo Blonde Ale y cerveza con EVMA.....	25
Figura 7. Derivados de la vaina de mezquite. a) harina de vaina de mezquite, b) extracto de vaina de mezquite	28
Figura 8. Contenido de carbohidratos en HVM tamizada, EVMA y EVMB	29
Figura 9. Cinéticas de consumo de carbohidratos y producción de bioetanol empleando <i>S. cerevisiae</i> , en medios de fermentación suplementados con 2 fuentes de nitrógeno: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, extracto de levadura y un medio control (EVMB o HVM sin fuente de nitrógeno) utilizando como fuente de carbono A) HVM y B) EVMB. Ext= extracto.....	31
Figura 10. Gráficas de superficie de respuesta que representan el contenido de bioetanol en función de las variables evaluadas mediante el DOE Box-Behnken: A) en función del tipo de cepa y agitación B) en función de concentración de azúcares y agitación, y C) en función de concentración de azúcares y tipo de cepa.	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características nutrimentales de tres variantes de vaina de mezquite (<i>Prosopis leavigata</i>) en el Altiplano Potosino, México.....	5
Tabla 2. Contenido de carbohidratos en materias primas utilizadas en procesos biotecnológicos	6
Tabla 3. Efecto de las condiciones de operación y cepa utilizada en la producción de bioetanol.	9
Tabla 4. Enzimas requeridas para la descomposición de carbohidratos presentes en la malta.	10
Tabla 5. Características de cervezas por Familia, estilo Ale.....	11
Tabla 6. Características de cervezas por Familia, estilo Lager.....	12
Tabla 7. Preparación de la HVM, EVMA y EVMB para su análisis por HPLC.....	18
Tabla 8. Diseño experimental Box-Behnken: factores y niveles.....	22
Tabla 9. Diseño experimental Box-Behnken niveles codificados de cada variable.	22
Tabla 10. Formulación de la cerveza estilo Blonde Ale.....	24
Tabla 11. Aspectos considerados para la evaluación de cerveza artesanal de acuerdo con BJCP 2012.....	26
Tabla 12. Clasificación de cerveza de acuerdo con el puntaje obtenido con respecto a BJCP 2012.....	26
Tabla 13. Producción de bioetanol y consumo de carbohidratos solubles al utilizar HVM.	30
Tabla 14. Producción de bioetanol y consumo de carbohidratos solubles al utilizar HVM.	32
Tabla 15. Producción de bioetanol y consumo de carbohidratos solubles al utilizar EVMB.....	32
Tabla 16. Rendimiento y productividad de bioetanol al utilizar HVM.	33
Tabla 17. Rendimiento y productividad de bioetanol al utilizar EVMB	34

Tabla 18. Coeficientes de regresión de las variables independientes no codificadas en la producción de bioetanol a las 24 h.	35
Tabla 19. Coeficientes de regresión de las variables independientes no codificadas en la producción de bioetanol las 36 h.	36
Tabla 20. Producción de bioetanol experimental y predicho utilizando el DOE Box-Behnken. Variables independientes no codificadas: agitación (X_1), cepa de levadura (X_2), concentración inicial de azúcares (X_3).....	37
Tabla 21. Resultado del análisis organoléptico de acuerdo con BJCP	41

I.- INTRODUCCIÓN

El mezquite es un árbol nativo de Asia, África y América, comprende 44 especies distribuidas ampliamente en las regiones áridas y semiáridas (1). En México el mezquite se encuentra en algunos de los estados colindantes a la costa del Pacífico, Golfo de México, regiones del noroeste y centrales del país como San Luis Potosí (Figura 1) (2).

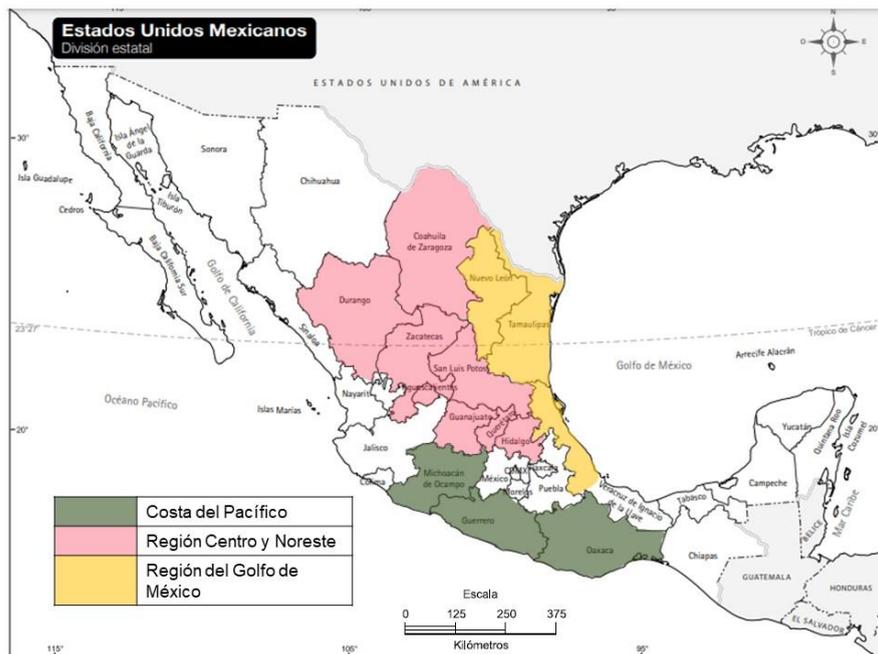


Figura 1. Localización del mezquite por regiones en México.

El mezquite, pertenece al género *Prosopis*, a la familia *Leguminosae (Fabaceae)* y a la subfamilia *Mimosoideae*, constituye uno de los recursos forestales y flora nacional más importantes del norte de México por sus usos como forraje, material de construcción y combustible (3). Las zonas en donde se encuentra proporcionan áreas de recreación humana, refugio de fauna silvestre, fuente de néctar para abejas y otros insectos. La función ecológica del mezquite es muy importante ya que es un excelente fijador de nitrógeno, lo cual mejora la fertilidad del suelo y controla la erosión (4). Además, es viable para la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados como el cobre (5).

En San Luis Potosí, México, existen 3 especies: *P. laevigata* (especie más abundante de México y en el estado), *P. glandulosa* var. *Torreyana* y *P. juliflora* se encuentran en la Zona Media y el Altiplano con una superficie de 193,800 ha. (6).

La zona con mayor distribución y aprovechamiento de este recurso es el Altiplano Potosino (7). La producción anual varía de 200 a 2200 kg por hectárea (8). Los municipios donde se recolectan grandes cantidades de vaina son: Matehuala, Cedral, Villa de Guadalupe, Charcas, Venado, Moctezuma, Aqualulco y Cerritos (9). En el municipio de Matehuala, se ha estimado la producción de siete mil toneladas por año de vaina de mezquite (10).

En el Altiplano Potosino se han identificado tres variantes de la especie *Prosopis leavigata* según el color, tamaño y forma de acuerdo con García-López et al. (7) (Figura 2).

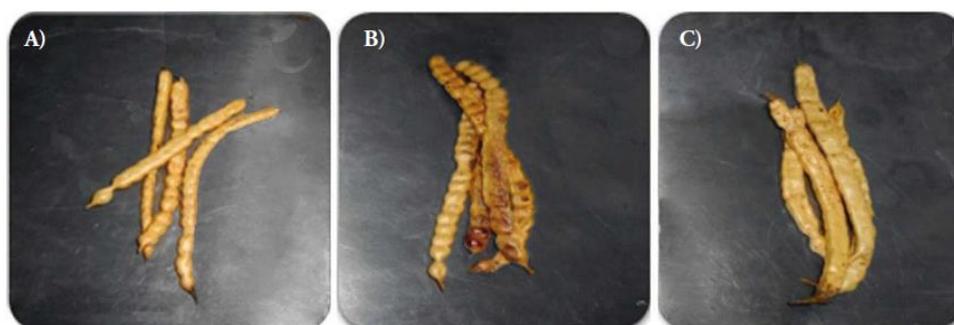


Figura 2. Variantes A, B y C de vainas de *Prosopis leavigata* en el Altiplano Potosino de México.

La variante A tiene una longitud promedio de 13.35 cm, con segmentación poco pronunciada, coloración amarillenta con tonalidades moradas o rojizas, es la variante más común y abundante. La variante B posee una longitud mayor de 14.53 cm, con gran segmentación y coloración amarillenta, en ciertas ocasiones morada o rojiza. La variante C mide 13.05 cm de largo, con pericarpio grueso y poca segmentación, de coloración amarillenta o paja. Respecto a su contenido nutricional no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto a carbohidratos (Tabla 1).

Tabla 1. Características nutrimentales (% MS) de tres variantes de vaina de mezquite (*Prosopis leavigata*) en el Altiplano Potosino, México. Tomado de García-López et al. (7).

Variante	MS	PC	FC	FDN	FDA	Cenizas	Grasa	CHO
A	90.40 ^a	8.84 ^b	17.59 ^a	29.10 ^a	20.19 ^a	4.03 ^b	4.00 ^a	49.20 ^a
B	90.78 ^a	10.28 ^a	16.88 ^a	27.09 ^a	19.92 ^a	4.20 ^a	3.90 ^a	48.10 ^a
C	90.60 ^a	8.14 ^b	15.01 ^b	17.68 ^b	17.68 ^b	3.61 ^c	3.80 ^a	48.90 ^a
EEM	0.17	0.31	0.45	0.38	0.38	0.04	0.02	0.82

MS: materia seca; PC: proteína cruda; FC: fibra cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; CHO: carbohidratos (extracto libre de nitrógeno); EEM: error estándar de la media; ^{a,b,c} Medias con diferente letra en una columna son diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). Los datos representan porcentajes.

Las vainas se consideran como el fruto del mezquite, en promedio pesan 12 g, están formadas por tres partes principales: mesocarpio que conforma el 56 %, endocarpio con el 35 % y semilla con el 9 %. Los frutos de *Prosopis spp.* tienen un alto contenido en carbohidratos (13–50 %), fibra (27–32 %) y proteína (8.1 %) (1).

Los usos como producto alimenticio que se le han dado son: jugo, pinole, queso y piloncillo. En este contexto, la vaina seca se tritura para obtener harina que puede ser mezclada con agua y consumirse inmediatamente, en atole o como harina para repostería (11). El jugo extraído del fruto se mezcla con harina de maíz para formar una bebida conocida como avenate. Y de manera relevante, se ha aprovechado la fermentación de los azúcares del fruto para producir bebidas alcohólicas como son la añapa y la chicha (1).

Los productos que actualmente se generan de la vaina derivan de procesos artesanales en donde no existe un control de las condiciones de operación. Es una materia prima que se utiliza escasamente, en su mayoría se considera desperdicio orgánico, o bien se limita a ser utilizada como alimento de ganado (12).

Algunos estudios han demostrado que la harina de vaina tiene un mayor contenido de carbohidratos solubles en comparación a materias primas que son usualmente utilizadas en procesos biotecnológicos lo que la convierte en una posible fuente sustentable para procesos biológicos como la fermentación alcohólica y así la obtención de bebidas tradicionales como la cerveza o productos como el bioetanol (Tabla 2) (13).

Tabla 2. Contenido de carbohidratos en materias primas utilizadas en procesos biotecnológicos. Modificada de Senatore et al. (14).

Materia prima	Carbohidratos (%)	Almidón (%)
Caña de azúcar	55	--
Maíz	63-69	60-66
Sorgo dulce	65-80	60-75
Trigo	84	58
Remolacha azucarera	66	--
Harina de vaina de mezquite	49	--

II.- MARCO TEÓRICO

2.1. Fermentación alcohólica

Los carbohidratos presentes en la vaina de mezquite (fructosa y sacarosa) pueden ser utilizados en fermentación alcohólica. Este tipo de fermentación parte de materias primas ricas en carbohidratos, que son metabolizados en condiciones anaerobias por levaduras, también por algunas bacterias como *Zymomonas mobilis* y algunos otros microorganismos para convertir azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono. La reacción general es (15):



Los microorganismos comúnmente empleados son levaduras, específicamente *Saccharomyces cerevisiae* por sus rendimientos de etanol que llegan alcanzar hasta 90 %, con respecto a la cantidad de fuente de carbono utilizada y las condiciones de operación. La tolerancia a etanol en promedio de este microorganismo es del 10 % v/v (16), (17). También es capaz de resistir inhibidores químicos como el furfural, ácido vanílico y el hydroximetil furfural, provenientes de hidrolizados lignocelulósicos y melazas (18).

El proceso de fermentación comienza con la descomposición de los azúcares por levaduras para formar moléculas de piruvato. Este proceso es conocido como glucólisis. Durante la glucólisis, una molécula de glucosa produce dos moléculas de ácido pirúvico. Luego el ácido pirúvico se transforma en acetaldehído mediante la enzima piruvato Descarboxilasa y en seguida el acetaldehído se convierte a dos

moléculas de etanol y de dióxido de carbono por medio de la enzima alcohol-deshidrogenasa (Figura 3) (16).

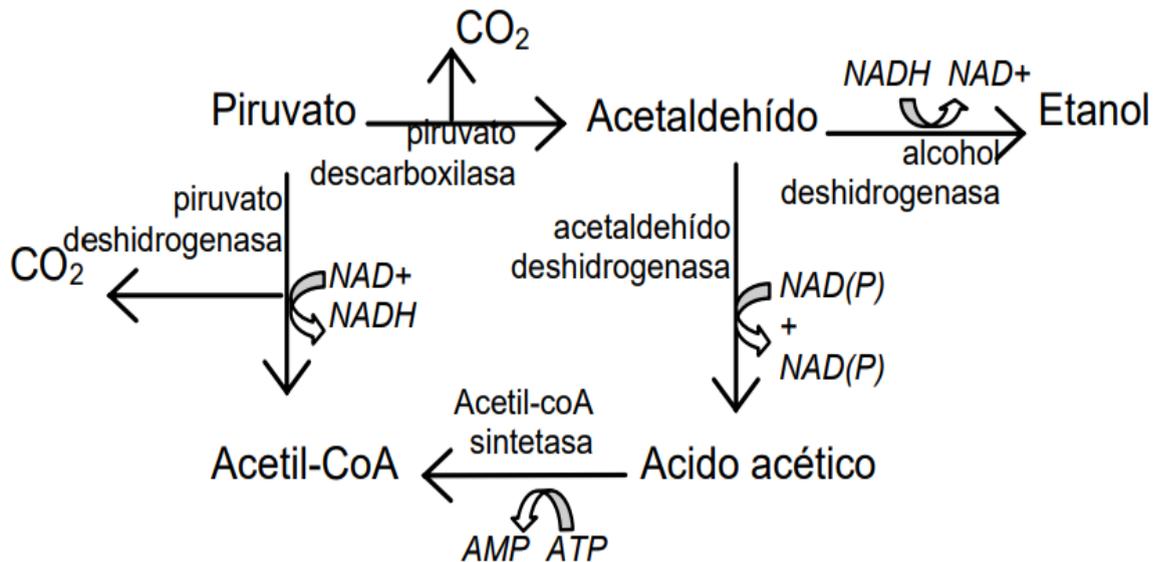


Figura 3. Metabolismo fermentativo en las levaduras. Tomado de Villadsen et al. (19).

El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO₂ a partir de 1 g de glucosa (20). Uno de los objetivos del proceso es alcanzar este rendimiento ya que la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos; por lo que el rendimiento con respecto al etanol observado varía entre 90 % y 95 % del teórico, es decir, de 0.469 a 0.485 g g⁻¹. Los rendimientos en la industria varían entre 87 y 93 % del rendimiento teórico (21).

2.1.1. Factores que influyen en la producción de bioetanol al utilizar *Saccharomyces cerevisiae*

Hay varios factores que influyen en la producción de bioetanol que incluye condiciones operacionales como temperatura, pH y concentración de inóculo, que están directamente relacionados con el tipo de microorganismo y cepa a utilizar. Por otro lado, la agitación, la concentración de azúcares, y el tiempo de

fermentación, favorecen el suministro suficiente de sustrato, su consumo y la permeabilidad de los nutrientes (22).

Como se comentó anteriormente, *S. cerevisiae*, es la levadura más estudiada. El rango de temperatura ideal para la fermentación es entre 20 y 35 °C (23). La concentración inicial de azúcar también se ha considerado un factor importante en la producción de etanol. Se puede obtener una alta productividad y rendimiento de etanol en la fermentación por lotes utilizando una concentración inicial de azúcar alta, lo que requeriría un tiempo de fermentación más prolongado.

Por otro lado el uso de una concentración excesiva de azúcar provocará una tasa de fermentación constante. Esto se debe a que la concentración de azúcar supera la capacidad de absorción de las células microbianas. Generalmente, la tasa máxima de producción de etanol se logra cuando se utilizan azúcares fermentables en una concentración de 150 g L⁻¹ (22).

Durante el proceso de fermentación el pH disminuye y favorece el crecimiento de la levadura, la tasa de fermentación y la formación de subproductos como el glicerol, ácido acético y el ácido fórmico. El rango de pH óptimo de *S. cerevisiae* es 4.0-5.0 (24). La velocidad de agitación confiere homogeneidad al cultivo y permite mejorar la transferencia de masa entre los nutrientes presentes en el medio y el interior de las células. La tasa de agitación comúnmente utilizada para la fermentación es de 150 a 200 rpm (25).

La concentración de inóculo no produce efectos significativos en la concentración final de etanol, pero utilizar concentraciones de 1×10^4 a 1×10^7 células mL⁻¹ favorece la tasa de consumo de azúcar y la productividad (25). Es por ello que el control de las variables de operación es un punto importante para mejorar los rendimientos del etanol, así como la levadura utilizada (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las condiciones de operación y cepa utilizada en la producción de bioetanol. Modificada de Mohd Azhar et al. (25).

Tipo de Levadura	Materia Prima	Parámetros	CA (g L ⁻¹)	CE (g L ⁻¹)	PE (g L ⁻¹ h ⁻¹)
<i>S. cerevisiae</i> RL-11	Café molido	30 °C, 200 rpm, 48 h	195.0	11.7	0.49
<i>S. cerevisiae</i> MTCC 173	Sorgo	30 °C, 120 rpm, 96 h	200.0	68.0	0.94
<i>S. stipitis</i> CBS 6054	Caña gigante	30 °C, 150 rpm, 96 h	33.4	8.2	0.17
<i>S. cerevisiae</i> KL 17	Galactosa y glucosa	30 °C, 200 rpm, 28 h	500.0	96.9	3.46
<i>S. pombe</i> CHFY0201	Almidón de yuca	32 °C, 120 rpm, 66 h	95.0	72.1	1.16
<i>S. cerevisiae</i> CHY1011	Almidón de yuca	32 °C, 120 rpm, 66 h	195.0	89.1	1.35
<i>S. cerevisiae</i> ZU-10	Maíz	30 °C, 180 rpm, 72 h	99.0	41.2	0.57
<i>S. cerevisiae</i> RPRT90	Campanilla	30 °C, 150 rpm, 28 h	72.1	29.0	1.03
<i>S. cerevisiae</i> CHFY0321	Almidón de yuca	32 °C, 120 rpm, 65 h	195.0	89.8	1.38

CA: Concentración de azúcares; CE: Concentración de Etanol; PE: Productividad de Etanol

2.2. Aplicaciones del bioetanol

El bioetanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico, su fórmula química es C₂H₅OH, lleva el prefijo "bio" porque se produce mediante la fermentación alcohólica de materias primas ricas en carbohidratos (26).

Los usos más comunes del bioetanol son industriales, domésticos y medicinales. El mercado del bioetanol puede subdividirse en tres, de acuerdo con sus destinos fundamentales como: combustible, uso industrial y bebidas. El uso como combustible representa 61 % de la producción mundial, ya sea para mezclar o reemplazar petróleo y derivados, alrededor de 23 % se destina a la industria procesadora (cosméticos, farmacéuticos, química, entre otras) y el 16 % restante se destina a la industria de bebidas (27).

2.2.1. El bioetanol en la industria de las bebidas alcohólicas

La industria de bebidas alcohólicas consiste en la producción y distribución de bebidas que contienen una concentración igual o superior a 1 % de su volumen de etanol en su composición. Existen dos tipos de bebidas alcohólicas: las fermentadas (vino, cerveza, sidra, etc.), que proceden de frutas o cereales y las destiladas (brandy, tequila, vodka, etc.) que se obtienen al eliminar una parte del

agua contenida en las bebidas fermentadas mediante destilación. En México la cerveza es la bebida alcohólica fermentada más vendida y popular (28).

La cerveza es una bebida fermentada hecha de granos malteados (generalmente cebada), lúpulo, levadura y agua. Tiene una composición compleja, que contiene una gran cantidad de compuestos que varían ampliamente en la naturaleza y en el nivel de concentración. Además del agua y el etanol, los principales componentes de la cerveza son la glucosa y los arabinosilanos (29).

La fuente de carbohidratos en la cerveza son los cereales con alto contenido de almidón, principalmente cebada malteada, pero también se pueden usar otros como el trigo, arroz, maíz, avena, sorgo y jarabes de azúcar.

Durante el proceso de cocción las enzimas presentes y/o activas convierten los carbohidratos de la malta en azúcares solubles (Tabla 4) (29).

Tabla 4. Enzimas requeridas para la descomposición de carbohidratos presentes en la malta (29).

Tipo	Enzima	Sustrato	Función
Amilasas	α -Amilasa	Almidón	Rompe los enlaces $\alpha(1,4)$ glucosídicos.
	β -Amilasa	Almidón y malto-oligosacáridos	Une el penúltimo enlace $\alpha(1,4)$ glucosídico al extremo no reductor.
Carbohidrasas	Dextrina límite	Amilopeptina y dextrinas ramificadas.	Une los enlaces $\alpha(1,4)$ glucosídicos.
	α -Glucosidasa	Oligosacáridos y maltosa	Exoenzima que libera glucosa.
	Endo- β -glucanasa	β -Glucano	Libera oligosacáridos de los β -D-glucopiranosil
	Exo- β -glucanasa	Oligosacáridos liberados por endo- β -glucanasas.	Produce glucosa a partir de oligosacáridos de β -glucano
	Endo- β -xilanasas	Arabinosilanos	Une enlaces de β -1,4 xilano
	β -Xilopiranosidasa	Arabinosilanos	Rompe polímeros de xilano
Carboxipeptidasas	α -L-Arabinofuranosidasa	Arabinosilanos	Libera unidades de α -L-arabinofuranosil a partir de pentosanos
	B-Glucano solubilasa	β -Glucano	Rompe los enlaces éster entre proteínas y β -glucanos, liberando β -glucano.

Las levaduras Ale se elevan cerca de la superficie de la cerveza durante la fermentación (fermentación superior, por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*), la temperatura de fermentación oscila entre 10 y 25 °C. Las levaduras Lager

(*Saccharomyces pastorianus*) se precipitan en el fondo de la cerveza, fermentan más lentamente, y su temperatura óptima esta entre 7-15 °C (30).

El uso de estos tipos de levaduras ha permitido establecer diferentes estilos de acuerdo con el proceso fermentativo (Tabla 5 y 6), que difieren en sabor y diversas características organolépticas (31).

Tabla 5. Características de cervezas por Familia, estilo Ale (32).

Familia y Ejemplo	Color ¹	Aroma y sabor debido a ²		ABV ³	IBU ⁴
		Malta	Lúpulo		
British Extra Special Bitter	Ámbar a cobre profundo	Medio a medio- alto	Medio a medio-alto	4.8 - 5.8	30-45
North American Golden/Blonde Ale	Paja a oro	Tostado a cereal u otros de malta pálida a niveles bajos a medios-bajos.	De medio bajo a medio	4.1 - 5.1	15-25
Belgian And French Belgian Style Dark Strong Ale	Ámbar medio a muy oscuro	Media a alta puede ser rica, cremosa y dulce. Con el suave sabor a malta tostada	Bajo a medio	7.1- 11.2	20-50
Irish Irish-Style Red Ale	Rojo cobre a marrón rojizo	Dulzura de malta a caramelo bajo con una ligera presencia de cebada tostada o malta tostada.	No presente en medio	4.0 - 4.8	20-28
German German-Style Altbier	Cobre a marrón oscuro	Aroma tostado típico de las maltas debe estar presente en niveles bajos con un poco de nuez.	Bajo a medio	4.6 - 5.6	25-52

¹ The American SRM; Standard Reference Method (Método de Referencia Estándar) ² Términos relativos de intensidad de acuerdo con Brewers Association. Estos atributos pueden incluir amargura, sabor, aroma, cuerpo, malta, dulzura u otros. En orden de intensidad creciente, las descripciones utilizadas incluyen: ninguno, muy bajo, bajo, medio-bajo, medio, altura media, elevado, muy alto. ³ ABV: Alcohol By Volumen (Alcohol por Volumen); ⁴ IBU: International Bitterness Unit (Unidades Internacionales de Amargor).

Tabla 6. Características de cervezas por Familia, estilo Lager (32).

Ejemplo	Color ¹	Aroma y sabor debido a ²		ABV ³	IBU ⁴
		Malta	Lúpulo		
Origen Europeo					
European-Style Dark Lager.	Marrón claro a marrón oscuro	Bajo a medio con aromas y sabores a chocolate, tostado y malta	Muy bajo a bajo	4.8-5.3	20-35
Bohemian-Style Pilsener	Paja a oro	Malta ligeramente tostada, ligeramente tostada, a pan tostado	Medio-bajo a medio	4.1-5.1	30-45
Origen Norteamericano					
American-Style Lager.	Paja a oro	Dulzura de la malta es muy baja a baja	No presente a muy bajo	4.1-5.1	5-15
American-Style Dark Lager	Marrón claro a muy oscuro	Bajo aroma y sabor a malta puede incluir bajos niveles de caramelo	Muy bajo a bajo	4.1-5.6	14-24
Otro Origen					
Tropical-Style Light Lager	Paja a oro	La dulzura de la malta está ausente	La dulzura de la malta está ausente	4.1-5.1	9-18

¹ The American SRM: Standard Reference Method (Método de Referencia Estándar). ² Términos relativos de intensidad de acuerdo con Brewers Association. Estos atributos pueden incluir amargura, sabor, aroma, cuerpo, malta, dulzura u otros. En orden de intensidad creciente, las descripciones utilizadas incluyen: ninguno, muy bajo, bajo, medio-bajo, medio, altura media, elevado, muy alto. ³ ABV: Alcohol By Volumen (Alcohol por Volumen). ⁴ IBU: International Bitterness Unit (Unidades Internacionales de Amargor).

2.2.2. El bioetanol como combustible

El bioetanol se considera un combustible oxigenado de combustión limpia debido a su contenido de oxígeno y su alto índice de octanaje (106-110, 12.72 % mayor al de la gasolina), es bastante efectivo al usarse como combustible de mezcla oxigenada, porque su presión de vapor Reid es baja, es decir, sus proporciones no aumentan la volatilidad de las sustancias con las que se suele mezclar como la gasolina, a diferencia del metanol (33).

El bioetanol se puede usar en motores de combustión interna, solo o mezclado con gasolina, dependiendo de su pureza; así, cuando está puro (99.5 %), se puede mezclar, realizando breves modificaciones al motor; si es impuro (95-96 %), no se mezcla (34) y es necesario realizar modificaciones para fortalecer el pistón, la biela, el cigüeñal e incluso los asientos de las válvulas y las válvulas.

Al quemar etanol, se debe aumentar la duración de la inyección (para aumentar el volumen de combustible inyectado) para proporcionar la misma cantidad de energía. Esto implica cambios en el circuito de admisión de combustible y los inyectores para tener un mayor flujo de combustible.

Los motores que funcionan con 100 % de etanol tienen dificultades para arrancar a temperaturas ambiente de -15 °C. Por tanto, el uso de etanol requiere un sistema de calentamiento (35).

El bioetanol en mezclas con gasolina se utiliza en concentraciones de 5 o 10 % (v/v). Otra alternativa para el uso del bioetanol como combustible es transformarlo mediante el proceso Hüls de producción de éteres terbutílicos (36) y puede ser utilizado como aditivo de la gasolina (37).

Las ventajas del uso de bioetanol como combustible se describen a continuación (38).

- Tiene un mayor índice de octano, lo que evita el golpeteo del motor, la ignición temprana y conduce a un alto valor antidetonante.
- Su mayor contenido de oxígeno permite una combustión más limpia y reduce las emisiones de hollín, monóxido de carbono e hidratos de carbono en comparación con los combustibles fósiles.
- Ayuda a reducir hasta un 80 % las emisiones de CO₂ del ciclo de vida en comparación con los combustibles fósiles.
- Tiene límites de inflamabilidad más amplios, mayor velocidad de llama, mayor calor de vaporización y menor tiempo de ignición, lo que mejora la combustión de combustible en comparación con los combustibles fósiles.
- Es biodegradable y no contiene compuestos aromáticos, olefinas y diolefina (33).

III.- JUSTIFICACIÓN

La vaina de mezquite no suele ser aprovechada como biomasa debido al desconocimiento de su uso y/o aplicaciones que pudiera tener con respecto a su contenido nutricional, por lo que las grandes cantidades producidas se convierten solo en desechos. Lo anterior impulsa a buscar opciones de aprovechamiento de la vaina, recurso abundante en la región, con un alto contenido de azúcares solubles, para utilizarla como materia prima en procesos de fermentación alcohólica y de esta manera obtener productos de alto valor agregado como el bioetanol y cerveza artesanal.

IV.- HIPÓTESIS

Los azúcares fermentables disponibles en las materias primas derivadas de la vaina de mezquite como la harina o el extracto, permiten obtener productos de alto valor agregado como el bioetanol y una bebida alcohólica con características organolépticas distintivas a las generadas en el mercado.

V.- OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Objetivo General

Fomentar el aprovechamiento del uso de vaina de mezquite en procesos fermentativos para la producción de bebidas alcohólicas como la cerveza artesanal y productos bioenergéticos como el bioetanol.

Objetivos Específicos:

- Establecer el proceso de pretratamiento de la vaina de mezquite para generar sustratos necesarios para los procesos fermentativos.
- Determinar del contenido de nitrógeno y carbohidratos totales en la harina de vaina de mezquite (HVM) y en el extracto de vaina de mezquite (EVM).
- Seleccionar la materia prima HVM o EVM con base en el rendimiento de bioetanol.

- Establecer las condiciones operacionales como agitación, concentración de azúcares iniciales y tipo de cepa que permitan aumentar los rendimientos en los ensayos de fermentación.
- Establecer el comportamiento cinético de *S. cerevisiae* en un cultivo en lote bajo diferentes condiciones de operación.
- Trasladar el cultivo a nivel biorreactor, determinar rendimiento y producción de bioetanol bajo condiciones controladas.
- Producir cerveza estilo Blonde Ale artesanal adicionada con EVM con características organolépticas distintivas a las generadas en el mercado.

VI.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Recolección de la materia prima y pretratamiento

La recolección de vainas de mezquite se realizó en los meses de junio y julio. Todas las vainas recolectadas llevaron el mismo proceso: lavado, desinfección, selección y secado de la vaina. Una vez la vaina seca está se sometió a dos procesos diferentes. El primero consistió en el pulverizado de la vaina y posterior tamizado para obtener HVM. El segundo fue un proceso de triturado, la vaina triturada se hirvió por 2 h con el objetivo de solubilizar en agua su contenido de carbohidratos. El sobrenadante del primer hervido se recolectó y nombró EVMB. Para aprovechar todos los azúcares residuales del bagazo restante, se sometió a un segundo hervido y el sobrenadante obtenido se le nombró como EVMA.

6.2. Cuantificación y caracterización de los carbohidratos presentes en la harina y extracto de vaina de mezquite

Los azúcares solubles presentes en la harina y el extracto de vaina de mezquite se determinaron por HPLC 1260 infinity (Agilent Technologies, EUA).

Para la caracterización de los azúcares presentes en las muestras, se tomó en cuenta los reportes previos de detección de azúcares y de etanol (40) para identificar los tiempos de retención (Anexo 11.1) de moléculas como la sacarosa, dextrosa, fructosa y etanol. Además de realizar líneas patrón para cada molécula.

6.3. Cuantificación del contenido de nitrógeno

El contenido de nitrógeno en las muestras con HVM y EVMA se determinó por el método de Microkjeldahl el cual consiste en 3 etapas: digestión, destilación y valoración ácido base.

El objetivo es romper todos los enlaces de nitrógeno de la muestra y convertirlo en amoníaco. Los equivalentes de ácido consumido durante la titulación corresponderán a los equivalentes de amoníaco destilados.

6.4. Microorganismos utilizados

Se utilizaron cuatro tipos de cepas de *S. cerevisiae*: 3 comerciales (Fermentis, Francia) y una cepa Wild-type.

6.5. Medios de cultivo

La fuente de carbono presente en el medio de cultivo se obtuvo de la materia prima procesada: HVM o EVM a diferentes concentraciones. Todos los medios, matraces y biorreactor utilizados se esterilizaron previamente en autoclave a 121 °C, 103 kPa durante 15 min.

6.6. Determinación de una fuente de carbono y nitrógeno

En el primer ensayo se utilizaron 6 grupos experimentales (Figura 5), grupo 1 y 2: control (HVM o EVM); grupo 3 y 4: HVM o EVM fortificado con una fuente orgánica de nitrógeno y grupo 3: HVM o EVM fortificada con una fuente inorgánica. El pH inicial del proceso fermentativo fue de 4 y un tiempo de fermentación de 48 h. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

6.7. Diseño de experimentos Box-Behnken

Se realizó un diseño experimental Box-Behnken de tres factores a tres niveles que consistió en 15 experimentos. Este diseño es adecuado para evaluar el efecto de variables sobre una respuesta con base en el análisis de superficies de respuesta y modelos polinomiales de segundo orden y tiene la ventaja de disminuir el número de experimentos a realizar. El diseño consta de tres puntos centrales y un conjunto

de puntos que se encuentran en los puntos medios de cada borde del cubo multidimensional que define la región de interés. El ajuste a un modelo de segundo orden tiene la siguiente forma:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1^2 + a_5X_2^2 + a_6X_3^2 + a_7X_1X_2 + a_8X_1X_3 + a_9X_2X_3$$

donde Y es la respuesta seleccionada, $a_0 - a_9$ son los coeficientes de regresión y X_1, X_2, X_3 son los factores o variables estudiados. El diseño experimental Box-Behnken es semejante al diseño ortogonal. Por lo tanto, los niveles de los factores están espaciados uniformemente y codificados para configuraciones bajas, medias y altas, como -1, 0 y +1.

Este diseño permitió establecer las condiciones del proceso fermentativo para su traslado a nivel biorreactor.

6.8. Traslado de las condiciones a un reactor en lote

Con base en las condiciones operacionales establecidas utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM) del ensayo anterior, se realizó el traslado del proceso a nivel biorreactor

6.9. Producción de cerveza artesanal

Se eligió un estilo de cerveza artesanal que contara con un perfil balanceado entre malta y lúpulo, un aroma dulce y frutal ideal para adicionar diferentes estilos de notas frutales como las del mezquite.

La carbonatación se hizo de forma natural con el CO_2 que se genera en una segunda fermentación durante 15 días a temperatura ambiente y poca iluminación. Para esto, se añadieron 6 g azúcar L^{-1} al fermentador, se mezcló para homogenizar, se dejó reposar por 20 min, finalmente el fermentado se trasladó a botellas de vidrio ámbar de 355 mL y se sellaron con corcholatas utilizando una máquina selladora manual (Homebrewers Outpost, EUA).

6.11.1. Análisis sensorial de la cerveza

Las cervezas con y sin extracto de mezquite fueron evaluadas por panelistas capacitados. La evaluación consiste en 5 aspectos que equivalen a puntajes como se muestra en la Tabla 11, el máximo puntaje acumulado es de 50 puntos. Dependiendo de los puntos recolectados es la forma en la que se califica la cerveza.

Tabla 11. Aspectos considerados para la evaluación de cerveza artesanal.

Aspecto	Características específicas	Puntaje máximo
Aroma	Malta, lúpulo, los ésteres y otros aromáticos	12
Apariencia	Color, turbidez, espuma.	3
Sabor	Malta, lúpulo, características de fermentación, balance, final/retrogusto	20
Sensaciones en boca	Cuerpo, carbonatación, calentamiento, cremosidad, astringencia.	5
Impresión General	Placer general	10

6.11.2. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles en cerveza se asocia a un menor riesgo de accidente cardiovascular y disminución de la mortalidad. La fuente principal de polifenoles proviene de la malta (70-80 %) y el lúpulo (30 %) (44). Para determinar si el EVMA aumenta el contenido de polifenoles en cerveza, se cuantificaron estos en los dos tipos de cerveza. El método utilizado fue el de Folin-Ciocalteu.

VII. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Variación en el contenido de carbohidratos y nitrógeno presentes en la HVM y el EVM

Se trabajó específicamente con 3 derivados de la vaina de mezquite (Figura 7). La concentración de carbohidratos fue de 7 % y 13.44 % para el EVM A y B, respectivamente; con respecto de la HVM sin tamizar se obtuvo una concentración de azúcares de 11.4 % y para la HVM tamizada aumentó 3.4 veces (38.26 %).

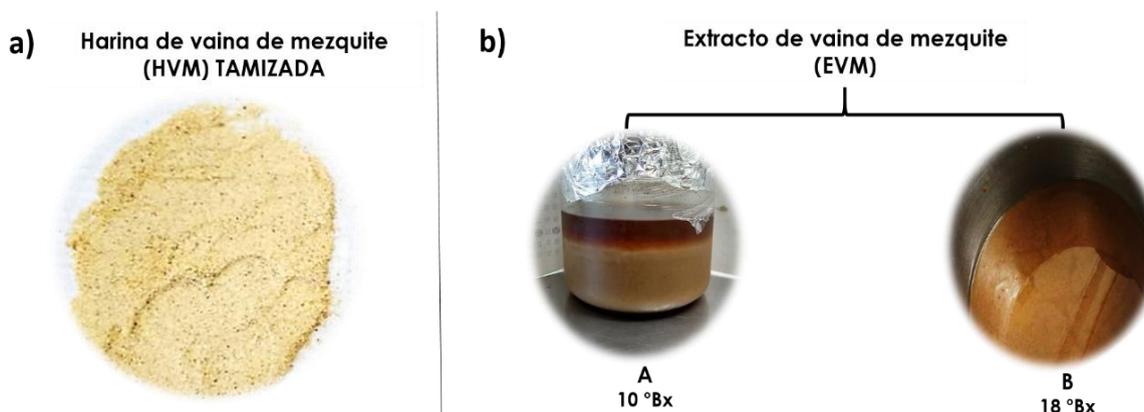


Figura 7. Derivados de la vaina de mezquite. a) harina de vaina de mezquite, b) extracto de vaina de mezquite.

Los azúcares identificados para los derivados de vaina de mezquite fueron: sacarosa en mayor proporción (en un rango de 76-93 %), seguido de fructosa (7-9 %) y en el caso del EVMA la presencia de dextrosa (23 %) (Figura 8).

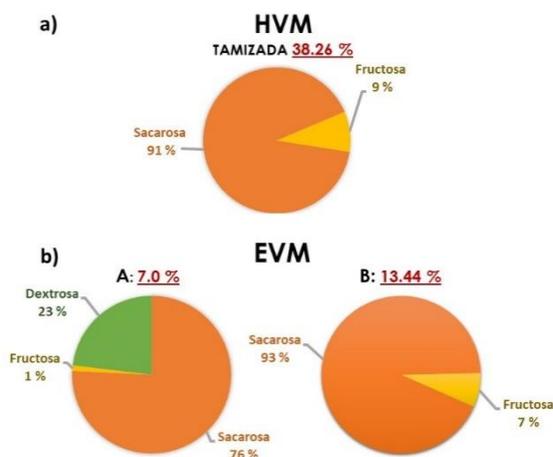


Figura 8. Contenido de carbohidratos en HVM tamizada, EVMA y EVMB.

7.2. El extracto de vaina de mezquite es la materia prima seleccionada para la producción de bioetanol

Las cinéticas de consumo de sustrato y de producción de bioetanol se muestran en las figuras 9A y 9B, se observa que el consumo de azúcares se llevó a cabo en las primeras 24 h mientras que la generación de etanol se realiza a partir de las 12 h. La producción de bioetanol es similar en los cultivos utilizando la HVM y el EVM.

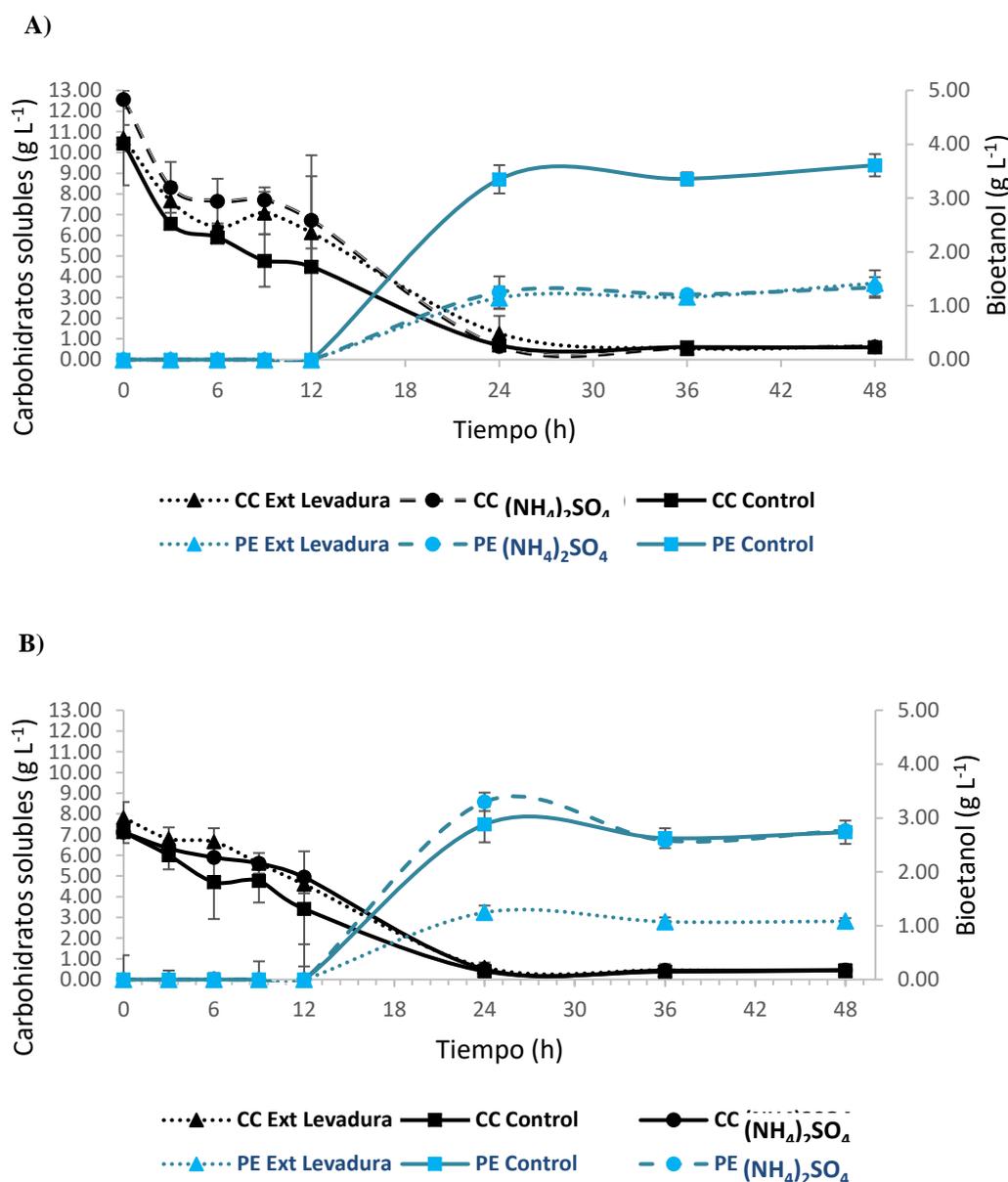


Figura 9. Cinéticas de consumo de carbohidratos (CC) y producción de bioetanol (PE) empleando *S. cerevisiae*, en medios de fermentación suplementados con 2 fuentes de nitrógeno: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, extracto de levadura y un medio control (EVMB o HVM sin fuente de nitrógeno) utilizando como fuente de carbono A) HVM y B) EVM. Ext= extracto.

7.2. La concentración de bioetanol obtenida es reproducible a nivel biorreactor

El traslado del proceso de fermentación se realizó a nivel biorreactor con base en las condiciones previamente seleccionadas de la metodología de superficie de respuesta que favorecen la producción de bioetanol. La concentración de etanol obtenida se encuentra dentro del rango de tolerancia de la levadura utilizada. Los resultados de rendimiento al emplear la especie *P. leavigata* fue 23 % mayor que cuando se utiliza la especie *Ceratonia siliqua* de acuerdo a lo reportado por Roukas (55) pero menor con respecto al rendimiento experimental esperado (90 y 95 %).

7.3. La cerveza artesanal de mezquite posee un porcentaje de alcohol acorde al estilo de cerveza Blonde Ale y califica como excelente con base en el análisis organoléptico

Con el fin de proporcionar valor agregado a la materia prima obtenida de la VM se generó un segundo bioproducto de interés comercial y cuyo proceso es fácil de montar, con base en un proceso artesanal. En este contexto, se generó una cerveza artesanal adicionada con extracto de vaina de mezquite.

La cerveza control se posicionó en la categoría de “muy buena” concluyendo que se encuentra dentro de los parámetros del estilo Blonde Ale seleccionado, con fallas menores; mientras que para la cerveza con mezquite los resultados indican que es una cerveza “excelente” y su estilo está acorde al estilo seleccionado.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Gallegos JA, Rocha NE, Gonzalez RF, García MA. Efecto del procesamiento térmico sobre la capacidad antioxidante de pinole. *CyTA Journal of Food*. 2013; 11(2): p. 162-170.
2. Torres L, Vaca M, Carpinteyro-Urban S. Use of *Prosopis leavigata* seed gum and *Opuntia ficus-indica* mucilage for the treatment of municipal wastewaters by coagulation-flocculation. *Natural Resources*. 2012; 3: p. 35-41.
3. Hernández JA, Valenzuela LM, Flores A, Ríos JC. Análisis dimensional para determinar volumen y peso de madera de mezquite (*Prosopis L.*). *Madera y Bosques*. 2014; 20(3): p. 155-161.
4. Rodríguez EN, Rojo GE, Ramírez B, Martínez R, Cong MdIC, Medina SM, et al. Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Wild.) en México. *Ra Ximhai*. 2014; 10(3): p. 173-193.
5. López M. Tesis. Mezquite (*Prosopis laevigata*) como alternativa para la recuperación de suelos contaminados por cobre. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2017.
6. Instituto Nacional de Investigaciones forestales ayp. Campo Potosino. [Online].; 2019 [cited 2019 junio 3. Available from: <http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/tecnologiasdesc.php?id=24>.
7. García-López JC, Durán-García HM, de-Nova JA, Álvarez-Fuentes G, Pinos-Rodríguez JM, Lee-Ranged H, et al. Producción y contenido nutrimental de vainas de tres variantes de mezquite (*Prosopis laevigata*) en el Altiplano Potosino, México. *Agrociencia*. 2019;(53): p. 821-831.
8. Pérez GS. Acciones y compromisos para el desarrollo sustentable. [Online].; 2010. Available from: http://ford.ciesas.edu.mx/2do_encuentro.htm.
9. Ruiz TDR. Tesis: Uso potencial de la vaina de mezquite para la alimentación de animales domésticos del altiplano potosino. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina; 2011.
- 10 Meraz S, Orozco J, Lechuga Á, Cruz F, Vernon J. El mezquite, árbol de gran utilidad. *Revista Ciencias* 51. 1998 julio-septiembre: p. 20-21.

- 11 Díaz L, Hernández JP, Guitérrez R, Téllez A, Castro J, Pérez R, et al. Nutritional . Characterization of *Prosopis laevigata* Legume Tree (Mesquite) Seed Flour and the Effect of Extrusion Cooking on its Bioactive Components. *Foods*. 2018; 7(124): p. 1-9.
- 12 Cerón AN, Vidal AY, Ángeles MA. Impacto del estado de madurez de la vaina . de mezquite (*Prosopis leavigata*) en su composición fisicoquímica posterior a su transformación en polvo. *Revista Congreso Nacional de Ingeniería y Tecnologías para el Desarrollo Sustentable*. 2015; 1: p. 1-7.
- 13 Soto X, Fernández K, Ruiz M. Aprovechamiento del fruto del mezquite (*Prosopis glandulosa y prosopis spp*) en la zona de San Luis Rio Colorado, Sonora, para la elaboración y comercialización de harina de alto valor nutricional. In Ramos M, Aguilera V, editors. *Ciencias Agropecuarias*. Guanajuato: ECORFAN; 2014.
- 14 Senatore A, Dalena F, Sola A, Marino A, Valletta V, Basile A. First-generation . feedstock for bioenergy production. In Basile A, Dalena F. *Second and Third Generation of Feedstocks.*; 2019: p. 35-57.
- 15 Zamora F. Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In Moreno MV, Polo MC, . editors. *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York, NY: Springer; 2009: p. 1-20.
- 16 Puerta QGI. Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. . Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. 2010: p. 1-12.
- 17 Ocón ME. Tesis Doctoral. Divesidad de levaduras no-*Saccharomyces* en . diferentes ecosistemas vitivinícolas. Logroño: Universidad de la Rioja; 2014.
- 18 Mohammad J. T, Keikhosro K. Chapter 12. Fermentation Inhibitors in Ethanol . Processes and Different Strategies to Reduce Their Effects. In Larroche C, Pandey A, Gnansounou E, Kumar S, Claude-Gilles D, Ricke S. *Biomass, Biofuels, Biochemical*. Amsterdam: Academic Press; 2011: p. 287-311.
- 19 Villadsen J, Nielsen J, Lidén G. *Bioreaction Engineering Principles* New York: . Plenum Publisher; 2003.
- 20 Suárez C, Garrido NA, Guevara C. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la . producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 2016; 50(1): p. 20-28.

- 21 Vázquez HJ, Dacosta O. Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *INGENIERÍA Investigación y Tecnología V.* 2007; VIII(4): p. 249-259.
- 22 Zabed H, Faruq G, Sahu JN. Bioethanol production from fermentable sugar juice. *The Scientific World Journal.* 2014: p. 1-11.
- 23 Liu R, Shen F. Impacts of main factors on bioethanol fermentation from stalk juice of sweet sorghum by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* (CICC1308). *Bioresource Technology.* 2008; 99(4): p. 847-854.
- 24 Maiorella B, Blanch H, Wilke C. By-product inhibition effects on ethanolic fermentation by *S. cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering.* 1983; 25: p. 103-121.
- 25 Mohd Azhar H, Abdulla R, Azmah Jambo S, Marbawi H, Azlan Gansau J, Mohd Faik AA, et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports.* 2017 Julio; 10: p. 52-61.
- 26 CropEnergies A. *cropenergies.* [Online].; 2017 [cited 2019 marzo 1. Available from: <http://www.cropenergies.com/Pdf/en/Bioethanol.pdf>.
- 27 Cadena Agroindustrial. Etanol Nicaragua: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura; 2004.
- 28 Seale and Associates. *Bebidas alcohólicas en México.* México; 2018.
- 29 Ferreira IMPLVO. Beer Carbohydrates. In Preedy VR. *Beer in Health and Disease Prevention.* Porto; 2009: p. 291-298.
- 30 Rajendram R, Preedy VR. 41- Ethanol in Beer: Production, Absorption and Metabolism. In Preedy VR. *Beer in Health and Disease Prevention.* London: Academic Press; 2009: p. 431-440.
- 31 Wunderlich S, Back W. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. In *Beer in Health and Disease Prevention.*: Elsevier; 2009. p. 1-15.
- 32 Brewers Association. 2019 Beer Style Guidelines. [Online].; 2019 [cited 2020 abril 10. Available from: <https://www.brewersassociation.org/edu/brewers-association-beer-style->

guidelines/?fbclid=IwAR0n1gIVznPkjwIwxNMv0JFEhJL4DFFswVPoE2diwqMSifwgfNHkGiVTzaA.

33 Lee S, Speight G, Loyalka K. Handbook of Alternative Fuel technologies Florida: . CRC Press Taylor & Francis Group; 2007.

34 Camps MM, Marcos MF. Los Biocombustibles. 2nd ed. Madrid: Mundi-Prensa; . 2008.

35 Nicolas R. car-engineer. [Online].; 2014 [cited 2020 Noviembre 23. Available . from: <https://www.car-engineer.com/adapting-an-engine-to-ethanol-fuel-flex-fuel/>.

36 Dávila PA, Ortiz I. Simulación del Proceso de Producción del Éter Etil Tert- . Butílico (ETBE). Influencia de la Relación Etanol/Isobuteno. Revista Información Tecnológica. 2004; 15(2): p. 3-6.

37 García C. Bioetanol. In Biocombustibles ¿energía o alimento?; 2014: p. 77. .

38 Chen L, Gao K, Zhang C, Lang W. Chapter 2- Alternative fuels for IC engines . and jet engines and comparison of their gaseous and particulate matter emissions. In Advanced Biofuels: Woodhead Publishing; 2019: p. 17-64.

39 Hernández D. Tesis: Producción de bioetanol a partir de vainas de mezquite. . San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2019.

40 López RAdC. Tesis: Desarrollo de una metodología de análisis por HPLC para . evaluar parámetros de calidad en la cerveza artesanal. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2017.

41 Doran PM. Chapter 4 - Material Balances. In Doran PM. Bioprocess Engineering . Principles. Second ed.: Academic Press; 2013: p. 87-137.

42 Blake D, Feltus A, Fitzpatrick T, Linsner M, Zainasheff , Beechum D, et al. Guía . de Estilos de Cerveza England K, editor.: Beer Judge Certification Program; 2015.

43 haztucheve.com. Haz tu cheve.com. [Online].; 2010 [cited 2020 Abril 17. . Available from: <http://www.haztucheve.com/>.

- 44 Moreno-Indias I. Beneficios de los polifenoles contenidos en la cerveza sobre la microbiota intestinal. *Nutr. Hosp.* 2012; 34(4): p. 41-44.
- 45 Peña LY, Yáñez L, Rodríguez J, Juárez B. Chemical composition and in vitro degradation of red and white mesquite (*Prosopis laevigata*) pods. *South African Journal of Animal Science.* 2014; 44(3): p. 299-206.
- 46 Felker P, Takeoka G, Dao L. Pod Mesocarp Flour of North and South American Species of Leguminous Tree *Prosopis* (Mesquite); Composition and Food Applications. *Food REviews Internation.* 2013; 29(1): p. 46-66.
- 47 Ingledew WM. Very High gravity (VHG) and associated new technologys for fuel alcohol production. Duluth, USA: Ethanol Technology Institute; 2017 c.
- 48 Arrizon J, Gschaedler A. Effects of the addition of different nitrogen sources in the tequila fermentation process at high sugar concentration. *Journal of Applied Microbiology.* 2007; 102: p. 1123-1131.
- 49 Inei G, Velasco HA, Gutiérrez GF, Hernández H. Statistical approach to optimization of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of Valfor 100 Zeolite NAA. *Revista Mexicana de Ingeniería Química.* 2009; 8(3): p. 256-270.
- 50 Almeida EL, Moreira e Silva G, Vassalli IdA, Silva M, Santana WC, da Silva P, et al. Effects of nitrogen supplementation on *Saccharomyces cerevisiae* JP14 fermentation for mead production. *Journal Food Sci. Technol.* 2020 Junio; 40(1): p. 336-343.
- 51 Guan X, Yao H. Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chem.* 2008; 51: p. 345.
- 52 Darvishi F, Abolhasan N. Optimization of an Industrial Medium form Molasses for Bioethanol Production Using the Taguchi Statistical Experimental-Design Method. *Fermentation.* 2019; 5(14
- 53 Fermentis bL. fermentis.com. [Online].; 2019 [cited 2020 Noviembre 22. Available from: <https://fermentis.com/en/fermentation-solutions/you-create-beer/safale-be-256/>.

- 54 Guillén A, Ferrer-Gallego PP, Serena V, Peris JB. El Algarrobo (*Ceratonia siliqua L.*), importancia paisajística, económica y perspectivas de futuro. *Chronica nature*. 2018; 7: p. 45-54.
- 55 Roukas T. Continuous ethanol production from carob pod extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a packed-bed reactor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 1994 Abril; 59(4).
- 56 Germec M, Karhan M, Turhan I, Demirci A. Ethanol production via repeated-batch fermentation from carob pod extract by using *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactor. *Journal Fuel*. 2015; 161: p. 304-311.
- 57 Habschied K, Loncaric A, Mastanjevic K. Screening of Polyphenols and Antioxidative Activity in Industrial Beers. *Foods*. 2020; 9(2): p. 238.