

Producción de proteína unicelular a partir de desechos de vinaza

¹MARYORI DÍAZ, ¹ANA SEMPRÚN, ²MARÍA GUALTIERI

¹Departamento de Ingeniería Química. Universidad Nacional Experimental Politécnica "Antonio José de Sucre. maryoridiazleal@hotmail.com. Barquisimeto – Venezuela.

²Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA. mgualtieri517@hotmail.com -Telf. 0274-2403527

RESUMEN

Las proteínas para consumo se obtienen principalmente de productos derivados animales y algunos vegetales como los cereales. Debido al crecimiento de la población mundial es necesario aumentar la calidad de los alimentos consumidos y los últimos estudios están orientados a encontrar nuevas fuentes proteicas. Por lo que se decidió estudiar la producción de proteína unicelular, específicamente de *Candida utilis*, a partir de un desecho agroindustrial; la vinaza. Para ello se realizaron una serie de fermentaciones con vinaza recolectada en la laguna de homogenización de una Planta de Tratamiento de una industria alcohólica, previamente esterilizada, e inoculada con *Cándida utilis*, para encontrar las condiciones de crecimiento más apropiadas de esta levadura en la vinaza. El estudio se basó en agregar diferentes concentraciones de una mezcla de nutrientes conformada por sulfato de amonio, urea y extracto de malta, para enriquecer la vinaza. Se experimentó con cuatro concentraciones de la mezcla de nutrientes: 0, 0,5, 1 y 1,5 g/L, resultando seleccionada la concentración de 1 g/L al presentar una alta concentración celular $2,2 \times 10^8$ células/ml, en un tiempo de fermentación de 5 h. La vinaza recolectada en la laguna, la proteína unicelular producida y el desecho líquido resultante de la fermentación fueron sometidos a una caracterización que incluyó los siguientes análisis: materia seca, proteína cruda, fibra cruda, extracto etéreo, ceniza y extracto libre de nitrógeno; encontrándose que la proteína unicelular obtenida presentó un 37 ± 4 % de proteína cruda, con lo cual se demostró que se obtiene un producto de alto contenido proteico.

PALABRAS CLAVE

Proteína unicelular, Fermentación, *Candida utilis*, vinaza.

ABSTRACT

The proteins are molecules of crucial importance for life, because they intervene in important metabolic processes for the normal development of living organisms. Proteins are obtained principally from animal products and some vegetables like cereals. Due to the growing world population, improving the quality of food has become an important necessity, and the latest studies are oriented towards finding new protein sources. Therefore, it has been decided to study the production of unicellular proteins, specifically, the *Candida utilis* protein, based on an agricultural industrial waste: The Vinaza. A series of fermentations of collected Vinaza from the homogenization lagoon of an alcohol treatment industrial plant has been made. The protein was previously sterilized and inoculated with *Candida utilis*, in order to find the most appropriate growing conditions of that yeast in the Vinaza. This study is based in the addition of different concentrations of a nutrients mixture, consisting of ammonium sulfate, urea, and malt extract in order to enrich the Vinaza. Four concentrations of the nutrients mixture were experienced: 0, 0.5, 1 and 1.5 g/L, being selected the 1 g/L concentration by presenting a high cellular concentration, $2,2 \times 10^8$ Cells/ml, in a 5 hours fermentation time. The lagoon collected Vinaza, the produced unicellular protein and the fermentation liquid waste, were submitted to characterization that included the following analysis: dried material, raw protein, raw fiber, ethereal extract, and nitrogen free extract. Finding that the obtained unicellular protein showed a $37 \pm 4\%$ of raw protein, which demonstrates that a product with a highly protein content was obtained.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son compuestos orgánicos complejos, cuya estructura básica es una cadena de

aminoácidos que contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. La presencia del nitrógeno diferencia a la proteína de los carbohidratos y las grasas. La proteína es el principal componente de los músculos, los órganos y las glándulas. Cada célula viva y todos los fluidos corporales, excepto la bilis y la orina, contienen proteínas. Las células de los músculos, los tendones y los ligamentos se mantienen con las proteínas, siendo necesarias para su crecimiento y desarrollo. Son compuestos de importancia crucial para la vida, ellas ayudan en los procesos metabólicos e intervienen en el crecimiento de los organismos, así como en la renovación celular. Por ello es importante que en la dieta diaria se incluya una porción importante de proteína, para así cubrir las necesidades de cada organismo en particular (Webb, 1966).

La producción de proteína de alto valor siempre será un proyecto de alto interés en cualquier país, como fuente de alimento tanto para humanos como para animales de granja, y por ello reviste trascendental importancia desde el punto de vista ecológico ya que puede contribuir a la utilización de subproductos de las agroindustrias para la producción de alimentos (Trujillo, 1985). La proteína unicelular (*Single Cell Protein*), es la proteína constituida por la biomasa de células). Es un nombre genérico que se da a las harinas proteicas obtenidas por fermentación aeróbica, derivadas de una serie de microorganismos unicelulares como levaduras, bacterias, hongos y algas (CIEPE, 1980).

Es por ello que, debido al alto contenido de proteína que contienen los microorganismos mencionados, se ha estudiado la posibilidad de incorporarlos en la dieta animal y hasta en la humana. Estos microorganismos contienen de un 30 a 50% de proteína en su composición, y la capacidad que tienen de reproducirse en medios muy variados hace posible pensar en la producción de organismos unicelulares a partir de desechos agroindustriales, que muchas veces pueden ser contaminantes, como una alternativa válida y ecológica (Molina, 1976). En el proceso de la destilería para producir alcohol etílico, resulta un residuo líquido final llamado vinaza, el cual se ha reconocido como un compuesto rico en sales minerales y materia orgánica, que ha sido usado principalmente como fertilizante en los campos de los cultivos. La vinaza constituye el desecho de mayor importancia en las destilerías de alcohol, debido al gran volumen de producción. La vinaza representa aproximadamente el 90% del volumen de fermentación original, es un líquido de color de café con bajo pH, olor dulce y alto contenido de materia orgánica disuelta y en suspensión (Trujillo, 1985). En el caso de las industrias licoreras, la vinaza ha sido normalmente vertida a las corrientes de agua sin

tratamiento alguno, causando una gran contaminación ambiental (la demanda biológica de oxígeno oscila entre 7000 y 20000 mg/litro). Por poseer altos valores de DQO (Demanda Química de Oxígeno) y DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno), un bajo valor de pH, taninos y otras sustancias podría provocar disminución en el oxígeno disuelto en el medio ambiente, favoreciendo la proliferación de organismos patógenos y la muerte de animales benignos para el ecosistema (CIEPE, 1980).

Debido a lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo es el aprovechamiento del desecho de vinaza recolectada en la laguna de homogenización de la Planta de Tratamiento de una industria alcohólica del estado Lara, para la producción de proteína unicelular mediante fermentación aeróbica con *Cándida utilis*, determinando la concentración más apropiada de una mezcla de nutrientes conformada por sulfato de amonio, úrea y extracto de malta, que se agregó al desecho líquido de vinaza, para obtener el máximo crecimiento en el menor tiempo posible. Adicionalmente se determinó la concentración de proteína que posee la biomasa de levadura cultivada, con el fin de conocer si es posible su producción como suplemento en fórmulas para alimentación animal.

MATERIALES Y METODOS

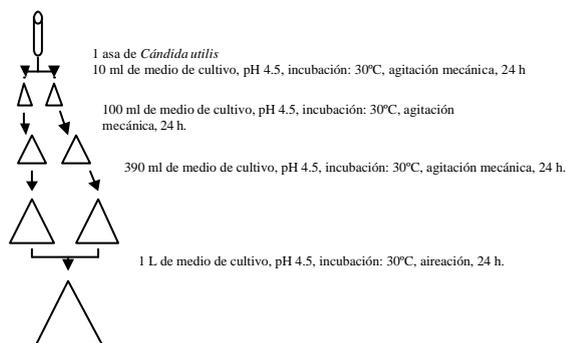
Microorganismo: Se emplearon cepas de levaduras *Cándida utilis* pertenecientes al Laboratorio de Microbiología de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, Decanato de Agronomía de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado"; crecidas en cuñas de agar de papa dextrosa. La incubación se realizó a 30°C. Los tubos de ensayo con las levaduras se guardaron en frío (4-6 °C) por un periodo máximo de un mes. Al cabo de este tiempo fueron repicadas.

Muestreo del desecho líquido: La vinaza utilizada para el cultivo de *Cándida utilis* se tomó de la laguna de homogenización de la Planta de Tratamiento de desechos líquidos perteneciente a una Industria Alcohólica, específicamente de la tubería de descarga de vinaza.

Ensayo de preadaptación y crecimiento: Este ensayo se realizó para adaptar la levadura al sustrato vinaza. Para ello se tomó una asada de cepas de *Cándida utilis* crecida en agar papa dextrosa y se inoculó en un tubo de ensayo que contenía 10 ml de vinaza esterilizada, al cual se le ajustó el pH a 4,5 previamente. Este inóculo se dejó en agitación mecánica por 24 horas a temperatura ambiente. Este procedimiento se repitió por dos períodos más de 24 horas para luego sembrar la cepa adaptada en agar

extracto de levadura glucosa-cloranfenicol (Gualtieri, 2001).

Preparación del medio de cultivo: Se prepararon 4 medios de cultivo diferentes, tomando como base 1 litro de vinaza y sin esterilizar, con concentraciones de 0, 0.5, 1.0 y 1.5 g/L de cada uno de los nutrientes por separado. Se ajustó el pH a 4.5; luego se repartió en proporciones de 10, 100 y 390 ml en fioas de 125, 500 y 1000 ml respectivamente, haciéndose por duplicado. Posteriormente se esterilizó la vinaza contenida en las fioas con tapón de gasa y algodón en un autoclave a 15 lbs durante 15 minutos.



Recuento de células: Para determinar el crecimiento de la levadura en el medio con vinaza se empleó la técnica de conteo de células en Cámara de Neubauer (Anido, 1943)..

Fermentación aeróbica: Luego de preparado el pie de cuba para cada medio, se procedió a montar la fermentación aeróbica. Para ello se mezcló el contenido de las fioas de 1000 ml, llegándose así a un volumen de 1 litro, y se colocó en una fiola de 2 litros previamente lavada y esterilizada, tapándola con un tapón aforado, el cual contenía 2 tubos. Por uno de ellos estaba conectada la entrada de aire proveniente de un filtro de aire utilizado para peceras, la salida de aire estaba casi al fondo de la fiola, para así garantizar una buena distribución de aire en la mezcla. El otro tubo era para la descarga de gases. Se encendió el filtro de aire y se dejó burbujear por espacio de 24 horas, tomando muestras para conteo celular cada hora, durante las primeras 9 horas (Goncalvez, 1984).

Separación de levadura del sobrenadante: Luego de finalizada la fermentación aeróbica se separó la levadura del sobrenadante mediante centrifugación a 1500 rpm.

Caracterización de productos de la fermentación: Los análisis químicos se realizaron por triplicado empleando métodos COVENIN. La determinación del extracto libre de nitrógeno (Brenner, 1965)-

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de realizar las fermentaciones con cada uno de los medios preparados se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura N°1. Las concentraciones celulares más altas se obtuvieron en la fermentaciones con concentraciones de 0.5 g/L, a las 24 horas de fermentación, 1.0 g/L, a las 5 horas de fermentación y 1.5 g/L, a las 24 horas de fermentación. La fermentación de concentración 1.0 g/L alcanzó los mismos valores de concentración que la fermentación de 0.5 g/l en menor tiempo, por lo que se descartó la última.

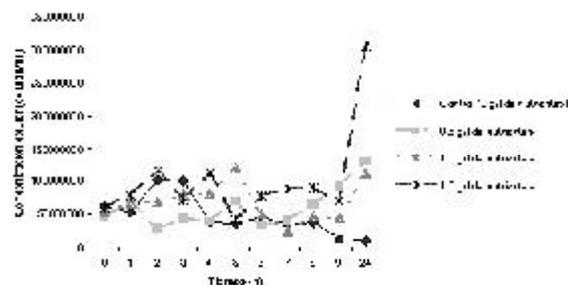


Figura N°1 Fermentación aeróbica de vinaza con *Cándida utilis* suplementada con 0, 0.5, 1 y 1.5 g/L de sulfato de amonio, urea y extracto de malta

Condiciones de crecimiento: Temperatura ambiente, pH 4.5, aireación, 1000 ml de medio de cultivo, Fioas.

Se repitieron las fermentaciones con las concentraciones de nutrientes 1.0 g/l y 1.5 g/L. En la figura N° 2 se observa el mismo comportamiento evidenciado anteriormente para la fermentación de 1.0 g/l, obteniéndose una alta concentración celular ($2,2 \times 10^8$ Células/ml), las 5 horas; mientras que para la fermentación de 1.5 g/l no se reprodujo el resultado. Por esto fue seleccionada 1.0 g/l como la concentración más apropiada de nutrientes para el crecimiento celular de *Candida utilis*.

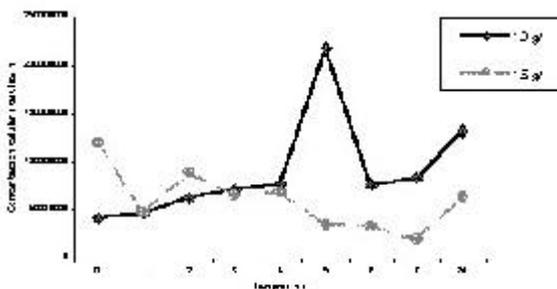


Figura N° 2. Fermentación aeróbica de vinaza con *Cándida utilis* suplementada con 1.0 y 1.5 g/L de sulfato de amonio, urea y extracto de malta

Condiciones de crecimiento: Temperatura ambiente, pH 4.5, aireación, 1000 ml de medio de cultivo, Fioas.

La caracterización del sedimento y el sobrenadante de la fermentación de la vinaza con *Candida utilis*, al agregar 1.0 g/l, de sulfato de amonio, urea y extracto de malta, de la laguna de homogenización; se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización química de la fermentación de la vinaza suplementada con 1.0 g/L de nutrientes.

MUESTRA	% MS	% PC	% EE	% FC	% Cn	% ELN
Vinaza	3,82	7,64	0,13	0,20	32,84	51,56
Sedimento de la fermentación	75	37,78	-	-	-	-
Sobrenadante de la fermentación	2,77	19,98	0,08	0,36	36,60	45,98

%MS: Materia seca, %PC: Proteína cruda, %EE: Extracto etéreo, %Cn: Cenizas, %ELN: Extracto libre de nitrógeno.

CONCLUSIONES

- La levadura *Candida utilis* crece, se reproduce y se adapta en el desecho de vinaza tomado de la laguna de homogenización de la Planta de Tratamiento de desechos líquidos de una industria alcohólica, obteniéndose un producto con alto contenido de proteína.

- La formulación más apropiada del medio de cultivo, teniendo como ingrediente principal la vinaza, es 1g/L de sulfato de amonio, 1g/L de urea y 1g/L por litro de extracto de malta. En este medio se obtuvo una alta concentración celular en menor tiempo ($2,2 \times 10^8$ Células/ml).

- Es necesario que antes de la fermentación aeróbica se realice un Pie de Cuba para adaptar la levadura al medio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anido, V. 1943. **Técnicas clínicas e interpretaciones.** Fraguio Cultural, S.A. La Habana, Cuba.

CIEPE. **Centro de Investigaciones Agroindustriales y experimentales para el Estado.** I Simposium Nacional de Desechos Agroindustriales. 7 y 8 de julio de 1980. San Felipe, Venezuela.

Goncalvez, Yene. 1984. **Producción de biomasa de *Chaetomium Cellulolyticum* a partir de vinaza como única fuente de carbono.** Fundación CIEPE. San Felipe. Venezuela.

Gualtieri, María. 2001. **Producción de biomasa de *Cándida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Schwanniomyces castelli*,** utilizando como substrato desechos de harina de maíz precocida (*Zea mays*). Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes.

Molina G., Yomaira M. 1976. **Producción de Levadura a partir de Vinaza.** Fundación CIEPE. San Felipe. Venezuela.

Trujillo, Francisco N. 1985. **Utilización de la Vinaza en la Producción de Levadura *Torula*.** Destilería Yaracuy. Chivacoa, San Felipe. Venezuela.

Webb, 1966. **Ingeniería Bioquímica** Acribia. Zaragoza, España.