

Biorrefinería

MEMORIAS

25

CEBA

PICHINCHA
Gobierno Provincial

I CONGRESO INTERNACIONAL DE
LACTOSUERO

Investigación - Desarrollo - Innovación
Expertos internacionales y nacionales

19 Y 20 DE AGOSTO
DE 09:00 A 18:00 HORAS

HOTEL HILTON COLÓN, SALÓN BARTOLOMÉ, AV. AMAZONAS N19-14 Y AV. PATRIA

www.pichincha.gob.ec

Quito-Ecuador
2019





El Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), es una institución de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i), constituido bajo la forma de Fundación de utilidad común, sin fines de lucro, religioso, racial y político. Es una persona jurídica de derecho privado, reconocida por el Estado ecuatoriano mediante acuerdo número 026 del 17 de marzo de 2009 del Ministerio del Ambiente y publicado en el Registro Oficial número 579 del 28 de abril de 2009.

El CEBA mantiene un enfoque científico-empresarial, con una filosofía de trabajo por resultados fundamentada en la competitividad. Promueve y apoya toda actividad encaminada a conseguir un equilibrio adecuado para el desarrollo de la BIOECONOMÍA. Los resultados científicos se difunden a través de la su revista Biorrefinería. <http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria/>.

MISIÓN. Proveer el soporte científico, tecnológico y empresarial a la BIOECONOMÍA de Ecuador y América Latina, mediante el desarrollo de la Biociencia, Bioinnovación y Bioeducación, que permita el máximo aprovechamiento de la biodiversidad y contribuya con la calidad de vida de la población en el marco del desarrollo sustentable y globalizado.

VISIÓN. Ser una persona global, de bien y progreso, responsable, que hace su aporte en el bienestar del ser humano y del planeta, para un mundo mejor.

VALORES. Integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración y diversidad.

El CEBA se alinea a los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU y al Plan Nacional del Buen Vivir:

- Mejorar la calidad de vida de la población.
- Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global.
- Impulsar la transformación de la matriz productiva.
- Asegurar la soberanía y eficiencia de los sectores estratégicos para la transformación industrial y tecnológica.

Gral. Ing. Gustavo Reyes Lara, MSc.

Director Ejecutivo

Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente
Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín (San Antonio)

Cel: (+593) 99 5797813, cebaecuador@gmail.com, www.ceba.org.ec

Ibarra-Ecuador

Biorrefinería

La Revista BIORREFINERÍA, es editada por el Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), con el objetivo de contribuir al desarrollo científico y tecnológico de la Bioeconomía Ecuatoriana y global. Se publica semestralmente en español o inglés trabajos de investigación básica y aplicada en los campos de la Bioeconomía, Bioagricultura, Bioalimentación, Biosalud, Bioambiente, Bioenergía, Bioindustria y otras disciplinas afines a las ciencias de la vida, dirigidas a la generación de nuevos conocimientos, evaluación y desarrollo de nuevas tecnologías, productos y procedimientos. Dirigida a la comunidad científica.

Consejo Editorial / Editorial Board	Comité Científico / Scientific Committee
1. Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD. Director Ejecutivo / Executive Director	1. Dr. Rubén Del Toro, PhD. PUCE, Ecuador
2. Lcda. M. Vanessa Rocha Cabuyales Editadora de Sección / Section Editor	2. Dr. José País, PhD, UTN. Ecuador
3. Dr. C. Gualberto León Revelo, PhD. Editor Técnico / Technical Editor	3. MSc. Jimmy Núñez, UTN. Ecuador
4. Ing. Astrid Stefanía Duarte Trujillo. Editor Académico / Academic Editor	4. MSc. Elsa Sulay Mora Muñoz. UTN, Ecuador
	5. MSc. Edwin Ortiz Rodríguez. GAD Antonio Ante, Ecuador
	6. MSc. Gustavo Reyes Lara. CEBA, Ecuador
	7. Ing. Carlos Alfonso Santillán. CEBA, Ecuador
	8. Dr. C. Fidel Domenech PhD. ONUDI, Cuba
	9. Dr. César Zuleta, PhD. PUCE, Ibarra, Ecuador
	10. MSc. Claudia Soto Arroyave. UCO, Colombia
	11. MSc. Napoleón Benavides. MAE, Ecuador
	12. Ing. Rubén Darío Guzmán. IANCEM, Ecuador
	13. Abg. César Augusto Ponce. CEBA, Ecuador
	14. MSc. William Gómez Andrade. CEBA, Ecuador
	15. MSc. Klever Ayala Pastaz. CEBA, Ecuador
	16. MSc. Juan Carlos Fiallos. CEBA, Ecuador
	17. Ing. Mario Cujilema. CEBA, Ecuador
	18. Dra. Gabriela Cifuentes Guerra, PhD. CEBA, Ecuador
	19. MSc. Javier Jiménez Forero. UNILLANOS, Colombia.
	20. MSc. Estefanía Andrade. FLACSO, Ecuador
	21. Msc. José Huaca. UTN, Ecuador.
	22. Dr. C. Ernesto Osejos, PhD. UTN, Ecuador
	23. Dr. C. Luis Enrique Trujillo Toledo, PhD. ESPE, Ecuador
	24. MSc. Anahí Virginia Cuellas, UNQ, Argentina
	25. Dr. Miguel Otero Rambla, PhD, Miami Dade College, EEUU
	26. Dr. C. Amaury Alvarez Delgado, PhD, ICIDCA, Cuba.
	27. Dr. Ullrich Stahl, PhD, UCE. Ecuador
	28. Dr. C. Ernesto Rosero Delgado, PhD. UTM, Ecuador
	29. MSC. Vicky Alejandra Mendoza Pico, UTM, Ecuador
	30. Ing. Daniela Tapia, Gobierno Provincial Pichincha, Ecuador

Equipo Técnico / Technical Team

1. Msc. Tatyana Saltos Echeverría,
Asistente de publicación / Publication assistant.
2. Camilo Alejandro Pineda Soto.
Diagramador y Diseñador / Diagrammer and Designer

ISSN digital: 2602-8530

URL: <http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria/>

Contacto: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com)

COMITÉ ORGANIZADOR



GOBIERNO PROVINCIAL DE PICHINCHA

Ing. Alejandro Tonello C., Viceprefecto Provincia de Pichincha
Daniela Tapia, Gobierno Provincial de Pichincha



CENTRO ECUATORIANO DE BIOTECNOLOGÍA Y AMBIENTE

Gral. Ing. Gustavo Reyes Lara-Director Ejecutivo, CEBA
Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD- Secretario, CEBA
Alejandro Pineda Soto, Técnico, CEBA
Melani Galarza Défaz, Promotor, CEBA

www.ceba.org.ec

cebaecuador@gmail.com

Cel. 0995797813

Ibarra-Ecuador



HEIFER ECUADOR

Ing. Juan Pablo Escobar, HEIFER ECUADOR

Juan.Escobar@heifer.org

Quito-Ecuador

AGRADECIMIENTO

Los organizadores del congreso agradecen al *Fondo Fiduciario Pérez-Guerrero para la Cooperación Sur-Sur (PGTF) PNUD*, que han hecho posible la presencia de los investigadores internacionales MSc. Anahí Virginia Cuellas UNQ-Buenos Aires-Argentina, Dr. Miguel Otero Rambla, PhD Miami Dade College-EE. UU. y Dr. C. Amaury Alvarez Delgado, PhD ICIDCA-Cuba, en el marco del proyecto "Obtención de Se-levadura para el desarrollo de terapias nutricionales en enfermedades neurodegenerativas [Se-levadura]", ejecutado por CEBA, ICIDCA y UNQ.

Tabla de contenido

1	<i>Potencialidad del suero de leche en biotecnología (Potential of cheese whey in biotechnology) Amaury Álvarez</i>	6
2	<i>Proteína microbiana a partir de suero de leche (Microbial protein from cheese whey) Miguel Otero</i>	18
3	<i>Producción de bebida energizante para el aprovechamiento integral del suero lácteo (Production of energy drink for the integral use of cheese whey) Anahí Cuellas</i>	28
4	<i>Enzimas lipasas con potencialidades para la aplicación en la industria alimenticia: caso suero de leche (Lipase enzymes with potential for application in the food industry: whey case) Ernesto Rosero</i>	35
5	<i>Acumulación y metabolismo de selenio por las células de levadura (Selenium accumulation and metabolism by yeast cells) Miguel Otero</i>	41
6	<i>Elaboración de un producto fermentado similar yogurt, a partir del suero lácteo (Preparation of a fermented product, simile yogurt, from cheese whey) Anahi Cuellas</i>	50
7	<i>Obtención de ácido láctico a partir de la fermentación del suero de leche con Lactobacillus bulgaricus (Obtaining lactic acid from the fermentation of whey with Lactobacillus bulgaricus) MSC. Vicky Alejandra Mendoza</i>	60
	PRESENTACIONES	68
8	<i>Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía-Horizonte 2035, Julio Pineda</i>	68
9	<i>Valoración del lactosuero-oportunidades para empresas innovadoras y sustentables. Rodrigo Gallegos</i>	94
10	<i>Economía circular. Oportunidades de desarrollo para el Ecuador. CEMDES</i>	106
11	<i>HEIFER ECUADOR promueve la innovación y el emprendimiento rural Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición. Juan Pablo Escobar</i>	117
12	<i>Uso de lactosuero como fuente de proteína de alta calidad en un alimento fortificado contra la desnutrición infantil. Dr. Ullrich Stahl</i>	123
	Instrucciones a los autores	132

1 Potencialidad del suero de leche en biotecnología (Potential of cheese whey in biotechnology) Amaury Álvarez

Amaury Alvarez-Delgado y Miguel A. Otero-Rambla
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)
Vía Blanca 804 y Carretera Central La Habana 11000 Cuba

Autor correspondiente: Miguel A. Otero-Rambla Email: maorambla@yahoo.es

Recibido: 18 de octubre de 2020

Aceptado: 18 de diciembre de 2020

Resumen

El presente trabajo aborda las potencialidades de aplicación de lactosuero en Biotecnología. Se analiza la composición del suero y su valor nutricional, así como su impacto ambiental. Además de los usos tradicionales de este coproducto de la fabricación de queso: uso directo en alimento animal, como fertilizante y la obtención de otros tipos de queso como el pecorino, se ofrecen otras alternativas posibles como alimento humano en forma de bebidas energizantes, mantequilla de suero y etanol para bebidas alcohólicas. El aislamiento de las proteínas presentes en el lactosuero para su venta en la red de gimnasios como reconstituyente parece una opción promisorio de revalorización. De igual forma la producción de proteína microbiana y etanol para bebidas o combustible sugieren aplicaciones con futuro en la revalorización de lactosuero.

Palabras clave: revalorización de lactosuero, aplicaciones biotecnológicas, producción de etanol, aislados de proteínas, proteína microbiana.

Abstract

Present paper deals with cheese whey potential for Biotechnology. Whey composition is analyzed together with its nutritional value and environmental impact. Apart from the traditional uses of this cheese-making co-product, namely: direct use on animal feeding, fertilizer and other cheese production as pecorino cheese, other alternatives are offered as human food as energizing beverages, cheese butter, and ethanol for liquor production. The isolation of soluble proteins remaining in whey after coagulation for muscle rebuild in gymns net, seems to be a promisory option for whey upgrading. Likewise microbial protein production and fuel alcohol forecast future development in whey uses.

Keywords: cheese whey upgradingt, biotechnological usage, ethanol porduction, whey protein isolate, microbial protein.

Introducción

El suero de leche es un líquido amarillo-verdoso que se obtiene como subproducto de la fabricación de queso. El color amarillento se lo da la presencia de Riboflavina (De Wit, 2001). El tipo de suero depende del procesamiento utilizado para eliminar la caseína de la leche. Los tipos más comunes de suero son el dulce (*sweet whey*) y el ácido (*acid whey*).

El primer paso para obtener el suero dulce es la adición de cuajo (*rennet*) que es una mezcla de enzimas, entre éstas, la proteasa quimotripsina. Esta enzima produce la cuajada de la caseína (desnaturalización enzimática). Los grumos son posteriormente separados del líquido remanente que es el conocido lactosuero. El proceso de cuajado se produce a pH en el entorno de 6.5 (Panaser *et al* 2007).

El otro tipo de suero, el ácido, se produce por la acción de microorganismos acidófilos tales como los *lactobacillus* o por la adición de ácido láctico o ácido mineral (sulfúrico o clorhídrico generalmente) y de ahí su pH que es significativamente más bajo, encontrándose en el entorno de 4.5. El pH ácido en general desnaturaliza las proteínas haciéndoles perder sus estructuras superiores, en el caso de la caseína se destruye la estructura terciaria y pierde la solubilidad (presenta punto isoeléctrico a pH 4.5) que conduce a la aparición de los grumos. La Fig 1 presenta una visión esquemática de ambos tipos de tratamiento.

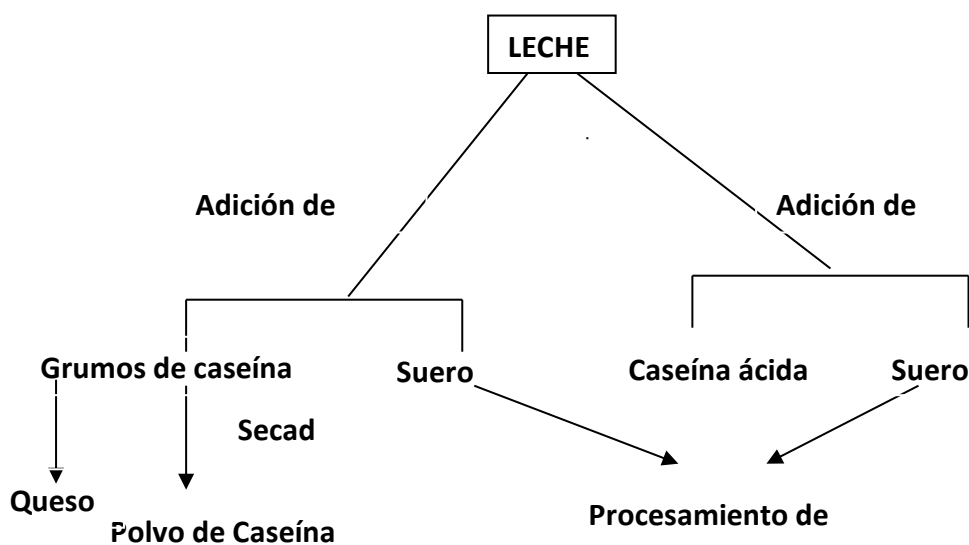


Fig 1 Esquema de tratamientos para la producción de quesos

El suero representa el 85%-95% del volumen original de la leche y retiene cerca del 55% de los nutrientes de ésta. Aproximadamente 20% del total de proteínas de la leche es conservada en el suero (Walsh 2014). El componente mayor del suero es agua, seguido por la lactosa (70%-72% de la materia seca), proteínas (8%-10% de la MSG) y minerales (cenizas 12%-15%). Calcio, potasio, sodio y magnesio proporcionan los componentes mayoritarios en forma de sales generalmente en forma de cloruros y trazas de Zn y Cu (Venetsaneas *et al* 2009). Los dos tipos de suero difieren en su composición en el contenido de proteínas, pH y minerales. En el suero se ha informado la presencia de ácidos cítrico y láctico, urea y ácido úrico y vitaminas del complejo B, pero éstos son componentes minoritarios. (Kosikowski 1979, Marwaha y Kennedy 1988). Por otra parte la composición de suero, como es de esperar, se ve afectada por la procedencia de la leche.

La Tabla 1 muestra la composición de proteínas de suero.

Tabla 1: Constituyentes mayoritarios de la fracción proteica del suero

Proteínas	% del suero*
α -lactalbumina	20-25
Seroalbumina	5-10
Lactoferrina	~1-2
Glycomacropeptido (péptido de caseína)	10-15
β -lactoglobulina	50-55
Inmunoglobulinas	10
Proteosa peptona	12
Lactoperoxidasa	~0.5

* Depende del tipo de suero

Desnaturalización térmica y ácida de las proteínas de suero

La proteína se desnaturaliza cuando su estructura nativa se deforma debido a la ruptura de algunos de los enlaces de hidrógeno. Estos enlaces débiles se rompen cuando se aplica mucho calor o cuando se exponen a la acción de ácidos. Al deformarse, parte de la estructura se desarma y algunas secciones de ésta que se encontraban escondidas se exponen promoviendo la formación de enlaces con otras moléculas de proteínas y la coagulación (Wijayanti *et al* 2014).

Las microempresas del sector lácteo en Ecuador fabrican queso principalmente del tipo fresco no madurado, es decir, el que se debe consumir inmediatamente después de la fabricación, utilizando como materia prima indistintamente la leche cruda o la leche pasteurizada (Mejía-López *et al* 2017). Aunque es conocido que la pasteurización ayuda a brindar leche y quesos inocuos, todavía existe la creencia de que la pasteurización daña a la leche y produce menos quesos que la leche sin pasteurizar.

Estudios realizados en diferentes trabajos demuestran que los tratamientos térmicos provocan la desnaturalización de las proteínas, es decir producen un cambio en su estructura física (estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria), pero en general no afectan a la composición de aminoácidos (estructura primaria mucho más estable) y por lo tanto a las propiedades nutricionales de la leche (Rynne *et al* 2004).

La pasteurización de la leche en las microempresas se realiza en forma discontinua aplicando fuego directo, o con vapor, a diferentes temperaturas. Las temperaturas más utilizadas son entre 63 a 65 °C por un tiempo de 30 minutos y de 72°C por 15 a 20 segundos.

La Fig 2 ilustra el proceso de denaturalización en general

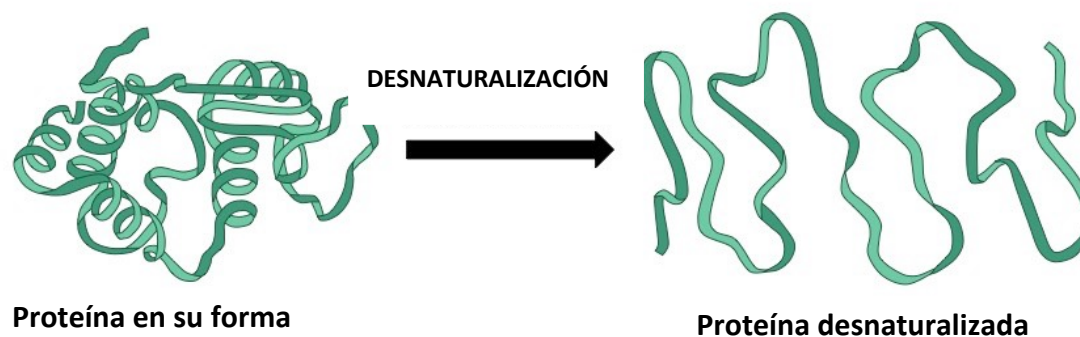


Fig 2 Desnaturalización de proteínas

La Fig 3 por su parte muestra las curvas de desnaturalización temperatura-tiempo de β -lactoglobulinas en leche. Estas proteínas son las más termolábiles de las presentes en la leche.

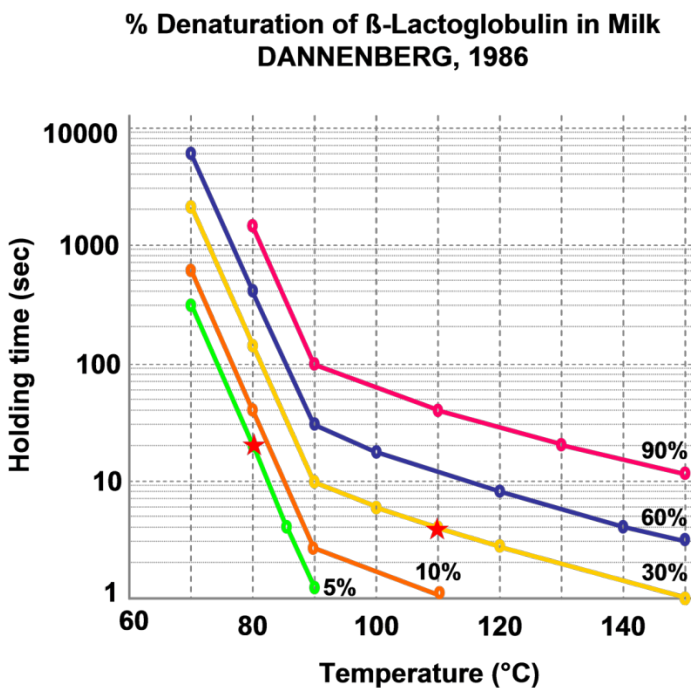


Fig 3 Desnaturalización térmica de β -lactoglobulina en leche

Impacto ambiental de suero de leche

El principal problema en el manejo de suero de leche es su disposición ambiental. Debido a sus componentes biodegradables la DBO se eleva hasta 40,000-60,000 mg/L. La DQO es aún mayor 50,000-80,000 mg/L (Chatzipaschali y Stamatis 2012). Este elevado potencial contaminante hace prohibitiva su disposición ambiental, incluso previo tratamiento de degradación de la materia orgánica. La lactosa, el componente mayoritario, es el principal responsable de éstos valores de DBO y DQO (Patel y Murthy 2011).

La producción de suero de leche a escala mundial es casi igual a los volúmenes de leche procesada en la fabricación de quesos y se estima en el entorno de 190 millones de toneladas por año (Baldasso *et al* 2011). La relación de queso a suero es 9 L de suero/kg de queso y los volúmenes de éste, a nivel mundial, se incrementan en la misma proporción que lo hace la leche destinada a fabricar quesos.

La disposición de suero crudo directamente en los cursos de agua está prohibida en la mayoría de las naciones productoras. Un derrame accidental en un cuerpo acuífero en Ohio en 2008 produjo la muerte de más de 5400 animales silvestres, en su mayoría peces por el consumo total del oxígeno disuelto en las aguas, esencial para la vida acuática. El consumo de oxígeno es debido a su utilización por los microorganismos presentes en el agua para la degradar la lactosa como sustrato.

La aplicación de suero como agua de riego tiene también enormes peligros por la solubilización de Fe y Mn presentes, lo que tiende a incrementar la salinidad de los suelos (Ghaly *et al* 2007).

Las tecnologías de tratamiento de aguas residuales tanto aeróbicas como anaeróbicas pueden ameliorar el impacto ambiental del suero, pero son en su mayoría procesos caros. Los sistemas antiguos de tratamiento aeróbico presentan serias dificultades al lidiar con estas altas cargas orgánicas lo que conduce a la necesidad de diluir estos residuos previamente para adecuarlos a las capacidades del sistema (incremento significativo de los volúmenes a manejar) y por tanto, altos tiempos de retención para ser eficientes en la reducción de la carga orgánica hasta límites manejables por los acuíferos receptores (Rivas *et al* 2010). Por otra parte los lodos (biomasa microbiana) producidos también conforman un serio problema para su disposición (Prazeres *et al* 2012). Los sistemas anaeróbicos tienen la ventaja de poder manejar altas cargas orgánicas y producir biogas que puede ser empleado como combustible alternativo en cocinas y plantas de generación eléctrica

(Chatzipaschali y Stamatis, 2012). No obstante, no son aplicables en todo tipo de latitudes además de ser de difícil mantenimiento.

Valor nutricional del suero

Es conocida la excelente calidad nutricional y las propiedades funcionales de los sólidos del suero, en especial de las proteínas (Macwan *et al* 2016). Su valor nutricional solo es superado por las proteínas del huevo. En general, el valor biológico (BV), la razón de eficiencia proteica (PER) y la utilización neta de proteínas (NPU) de las proteínas de huevo y suero son 104 y 100, 3.6 y 3.8 y 92 y 94 respectivamente. El suero es rico también en aminoácidos esenciales, *i.e.* lisina, metionina y cisteína (Smithers 2008).

Usos tradicionales de suero de leche

La utilización más extendida es su empleo directo en la alimentación animal (cerdos, ovejas y ganado vacuno), o como fertilizante (Watson *et al* 1977). Como alimento animal, usualmente diluido con agua para beber, proporciona proteínas de alta calidad y además lactosa como fuente de energía. Suministra también calcio, fósforo, azufre y vitaminas hidrosolubles. Se ha observado sin embargo, que el exceso de lactosa y minerales puede ocasionar problemas en los animales si no se limitan las cantidades de suero crudo en la dieta (Sienkiewicz y Riedel 1990).

La irrigación presenta también limitaciones significativas por el exceso de K y Mg que puede conducir a la salinización excesiva de los suelos dañando así la fertilidad de éstos. Ambos usos están a su vez limitados por los grandes volúmenes de suero y el alto costo de transportación, sin tener en cuenta que es un material perecedero por la tendencia a la fermentación de la lactosa.

El suero como alimento humano

El suero puede emplearse en la elaboración de productos alimentarios como queso de suero y bebidas. El conocido queso ricotta, al contrario que la cuajada, no se extrae directamente de la leche sino del lactosuero, obtenido en la elaboración de mozzarella, provolone y sobre todo de pecorino. Por esta razón se le denomina con frecuencia queso de suero (Chandan 2003).

Las bebidas más comunes sobre la base de sueros son los jugos de frutas mezclados con suero (Guimarães *et al* 2010). Éste se puede emplear también para producir bebidas alcohólicas.

Es preciso calentar el suero previamente hasta 80°C para desnaturalizar las proteínas presentes y separarlas del medio a fermentar. Los grumos producidos son entonces empleados en la fabricación de queso. La fermentación alcohólica presenta limitaciones con relación a las levaduras a emplear que deben ser capaces de utilizar la lactosa como sustrato como las del género *Kluyveromyces* que desdoblan el disacárido en sus componentes glucosa y galactosa que después son fermentados anaeróticamente para producir etanol.

La mantequilla de suero es otro producto potencial. La crema de suero es extraída antes de secarlo después de la elaboración de queso o la producción de concentrados de proteínas. La mantequilla producida es ligeramente más blanda que la normal de leche entera y un poco más salada.

Estos productos, no obstante, tienen limitadas opciones comerciales por las dificultades para procesar los enormes volúmenes de suero producidos.

Las proteínas de suero por su parte, poseen muy favorables propiedades funcionales y pueden emplearse como emulsionantes, gelificantes, retenedores de agua y formadores de espuma en los sistemas alimentarios (Svanborg *et al* 2015). Estas propiedades son útiles en numerosos alimentos como sopas, aderezos de ensaladas, carnes procesadas y productos horneados (Walsh 2014). La Tabla 2 muestra algunas de las alternativas de empleo de suero de leche.

Tabla 2: Algunos productos industriales que pueden obtenerse de suero de leche

Productos suero	del	Uso	Producción	Disponible comercialmente
Bioetanol		Combustible, bebidas	Fermentación suero	de Si
Biobutanol		Combustible, industria química	Fermentación suero	de
Antibióticos (Bacteriocinas)		Industrias alimentaria y farmacéuticas	Fermentación permeado del suero	de
Proteína microbiana		Alimento animal	Propagación biomasa microbiana en suero	de Si
Glicerol		Combustible, industria química	Fermentación suero	de
Aceite microbiano		Industrias de alimento y y farmacéuticas	Fermentación suero	de
Vinagre		Industria alimenticia	Fermentación suero	de

Polvos de suero y permeados

El polvo de suero se obtiene mediante el secado por atomización (Kosikowski 1979, Yang y Silva 1995). El secado conserva el suero por un tiempo más prolongado para su transporte y manipulación posterior. El polvo seco se ha empleado básicamente en la alimentación animal mezclado con melazas de caña o harina de soja.

Para la obtención de proteínas de mayor pureza, la lactosa de suero debe ser separada por medio de la tecnología de membranas de ultrafiltración o diafiltración. La ultrafiltración es un proceso gobernado por la presión y usa membranas caracterizadas por su selectividad en relación con el peso molecular de las especies presentes. Esta técnica es adecuada para clarificar soluciones con sólidos suspendidos, bacterias y elevadas concentraciones de macromoléculas. En el proceso los sólidos suspendidos y los solutos con alto peso molecular, son retenidos en tanto que el agua y los componentes de bajo peso molecular pasan a través de la membrana hacia el permeado. La ultrafiltración puede ser aplicada en flujo tangencial (*cross flow*) o de extremo muerto (*dead end*) en dependencia del tipo de membrana empleada. La primera es mucho más eficiente en el control de la formación de artefactos (*fouling*) por deposición de los sólidos sobre la superficie interna de la membrana (Singh 2015).

La técnica de diafiltración continua (conocida como diafiltración a volumen constante) es usada mayormente para el lavado de impurezas de bajo peso molecular en la muestra por la adición de agua o buffer. Es un proceso más amable en el procesamiento de macromoléculas que la ultrafiltración (Lipnizki 2010).

Suero de leche como recurso biotecnológico

Concentrados de proteína de suero

Las membranas de UF poseen un corte de peso molecular (*cut-off*) entre 3000 y 100,000 Da. El más común en esta industria es el standard de 10,000 Da. Este es el corte tradicional para eliminar la lactosa y retener las proteínas (Patel *et al* 1990). De esta forma se producen tanto los concentrados (WPC) entre 35% y 85% de proteínas, como los aislados (WPI) con 90% o más de contenido proteico. La alternativa de secado directo de suero no compete en calidad con los productos procesados por tecnologías de membrana debido a su granulometría y baja solubilidad.

El problema principal de uso de membranas radica en la formación de artefactos en la superficie sobre todo cuando el suero presenta contenidos relativamente altos de fosfato de calcio. El control de estas deposiciones puede llevarse a cabo si se emplea diafiltración a volumen constante para mantener la sal disuelta. El inconveniente es que genera altos volúmenes de permeado libre de proteínas altamente contaminante (Mollea *et al* 2013).

Proteínas y péptidos de suero

Comercialmente la proteína de suero se ofrece en tres diferentes formas:

- **Concentrados** (WPC) usualmente tienen un contenido bajo de grasas y colesterol, aunque aún es significativo, pero en general, contienen entre 35% y 85% de proteínas por unidad de peso.
- **Aislados** (WPI) son procesados para eliminar tanto la lactosa como las grasas presentes. Contienen 90% o más de proteínas. Ambos WPC y WPI tienen sabor ligeramente lácteo.
- **Hidrolizados** (WPH) son las mismas proteínas de suero predigeridas e hidrolizadas parcialmente para facilitar el metabolismo pero el costo de producción es alto (Foegeding *et al* 2002)

Las proteínas de suero son térmicamente sensibles y en ese sentido, el tratamiento térmico de suero para la obtención de WPC o WPI debe ser estrictamente controlado para conservar la solubilidad de las proteínas una propiedad deseada para las aplicaciones posteriores (Wijayanti *et al* 2014, Qian *et al* 2017).

Lactosa

Lactosa o azúcar de leche puede recuperarse del permeado que se obtiene en los procesos de filtración (UF o DF) por cristalización (Patterson 2009). La lactosa se utiliza ampliamente en la industria alimenticia por su bajo poder edulcorante. Se emplea en los productos horneados para promover el oscurecimiento de la corteza por la reacción de Maillard.

Otro uso potencial es hidrolizarla y obtener sus componentes glucosa y galactosa. Este proceso es catalizado por la enzima β -Galactosidasa que puede inmovilizarse en diferentes soportes. La solución resultante muestra un poder edulcorante muy superior al de la lactosa tal cual (Joesten *et al* 2006) y tiene aplicaciones en la industria alimentaria.

Bioconversión de suero en otros productos útiles

Bioetanol

Se ha venido llevando a cabo esfuerzos en todo el mundo con el objetivo de revalorizar el suero como alimento mediante la producción de productos de alto valor agregado. La producción de bioetanol es una de las más estudiadas por el conocimiento actual sobre las tecnologías de fermentación, deshidratación y purificación en columnas de destilación (Ling 2008, Pasoti *et al* 2017). Se ha estudiado igualmente la producción de vinagre (Parrondo *et al* 2009), levadura para producción de extracto (Revillion *et al* 2003) y proteína microbiana (SCP) entre otras aplicaciones (Schultz *et al* 2006).

En las últimas tres décadas muchos autores han investigado la producción de etanol a partir de lactosa por medio de la fermentación directa del permeado de suero con levaduras tales como *K. fragilis*, *K. marxianus* y *Candida kefir* (previamente *Candida pseudotropicalis*). Esta última sin embargo no es aconsejable para el uso a gran escala por los eventos de toxicidad potenciales (Dufresne *et al* 2014). El empleo de *S. cerevisiae* para la producción de etanol a partir de suero, ha atraído mucha atención. Inicialmente su empleo obligaba a la prehidrólisis por cuanto esta levadura no es capaz de degradar la lactosa. Sin embargo el desarrollo de técnicas modernas de manipulación genética ha hecho posible la obtención de cepas de *S. cerevisiae* capaces de consumir lactosa por medio de fusión de protoplastos y expresión de β -galactosidasa y permeasa heteróloga que son segregadas al medio. El sistema operando en reactor continuo resultó en una productividad de etanol de $\sim 10\text{g/L/h}$ (Domingues *et al* 2010).

Hasta la fecha, sin embargo, estas investigaciones no han ido más allá de los estudios de laboratorio. Solo unos pocos procesos han sido implementados a escala comercial para producir etanol a partir de suero, con plantas en Irlanda, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Dinamarca y Alemania.

El Grupo Carbery (Cork, Irlanda) fue la primera compañía en el mundo en operar un proceso de producción de etanol de suero. La planta se inauguró en 1978. El proceso fue diseñado para producir etanol para bebidas, usos farmacéuticos y productos industriales. Los dos primeros requieren etanol de superior calidad. A partir de 2005 la fábrica derivó su producción hacia la obtención de etanol combustible (Doyle 2005, Ling 2008). La planta opera el sistema de fermentación *batch* empleando *K. marxianus*. Antes de la fermentación el permeado de suero se concentra por ósmosis inversa para elevar la concentración de lactosa en el medio hasta 80 g/l. La levadura se recupera al final y se reincorpora al sistema como inóculo varias veces. La concentración de etanol fluctúa entre 2.5–4.2% (v/v). El medio fermentado se destila en un sistema de columnas. Carbery produce alrededor de 10.5 millones de litros de etanol por año (Irish Bioenergy Association 2012).

En Nueva Zelanda, Anchor Ethanol, opera tres plantas que convierten suero en etanol y produce en total alrededor de 15 millones de litros/año (Lee-Jones 2009). Las plantas producen etanol de diferentes calidades, desde etanol para bebidas hasta etanol anhidro combustible.

Los mercados principales para etanol de suero han sido: farmacéutico, cosméticos, solventes industriales y por supuesto la industria de alimentos y bebidas (Thiele 2005). Desde 2007 se ha suministrado por esta compañía etanol combustible a una empresa petrolera para producir E10 (10% de etanol en gasolina).

Aunque como se ha dicho anteriormente el proceso varía entre las diferentes plantas, en general comparten los principios básicos comunes y etapas de proceso. Así, después de separadas las proteínas presentes por ultrafiltración se inocula el microorganismo al permeado rico en lactosa. La lactosa se fermenta por cepas de levadura especialmente adaptadas (se piensa sea *K. marxianus* en el proceso Carbery, *Streptococcus fragilis* en el proceso Dansk Gaerings y *K. fragilis* en el proceso Milbrew aunque no se tiene la certeza absoluta por formar parte del *know how* del proceso) todas eficientes en la fermentación de lactosa.

El proceso de producción de etanol a partir de suero es sin dudas muy atractivo pero desde el punto de vista económico no es competitivo cuando se compara con la producción de etanol de otras fuentes como la caña de azúcar o maíz. El costo de etanol de suero se estima alrededor de \$1.60-1.85/galón, en tanto que el etanol de maíz se obtiene a costo de \$1.14/galón y el de caña de azúcar aún menor en el entorno de \$0.83/galón (Ling 2008).

Biobutanol

La producción de biobutanol a partir de suero se ha investigado también. Este tiene la ventaja sobre el etanol combustible que puede ser empleado directamente en los motores de petróleo mientras que el uso del etanol requiere modificaciones. No obstante, los estudios se han limitado al empleo de hongos del género *Clostridia* para la producción de butanol de suero (Raganati *et al* 2013, Qureshi *et al* 2014).

Proteína microbiana (SCP)

La proteína microbiana o como se conoce también *Single-cell protein* (SCP) es una referencia a las fuentes de proteínas mezcladas que se extraen de cultivos puros o mixtos de microalgas, levaduras, bacterias y hongos. En general estas se producen a partir de residuos agro-industriales.

En el caso de suero de leche, la producción se lleva a cabo bien por la propagación directa sobre éste o el permeado de suero con microorganismos capaces de utilizar lactosa como sustrato. También se ha aplicado la hidrólisis previa de ésta, por vía enzimática o química (Moeini *et al* 2004).

La lactosa puede ser convertida directamente en biomasa microbiana por muchos microorganismos. En su mayoría los estudios se han conducido empleando levaduras, mayormente cepas de *K. fragilis*

o *Kluyveromyces marxianus* que ofrecen buen rendimiento biomasa/sustrato, altas tasas de crecimiento y son microorganismos GRAS (Ghaly *et al* 2005, Otero *et al* 2009, Anvari y Khayati 2011). Es importante tener en cuenta que la proteína microbiana en este caso se produce sobre la base del principal contaminante del suero, la lactosa por lo que la obtención de un producto valioso va a acompañada de la reducción de DBO y DQO reduciendo significativamente su poder de polución.

Conclusiones

Para el inicio de producciones a partir de suero existen numerosas alternativas. Algunas requieren de tecnologías relativamente poco costosas, bien conocidas en la actualidad, en tanto otras precisan de una inversión mayor.

El factor económico dependerá de la escala de producción cualquiera sea el producto y el precio más probable de éste en el mercado local principalmente. La instalación de sistemas de membranas (UF/DF) para la separación de las proteínas del suero y posterior secado por atomización para obtener WPC o WPI parece viable aún a escalas no muy grandes. Existen en el mercado equipos de filtración por membrana de diferentes capacidades (laboratorio, planta piloto y escala industrial). La limitación radicará en los volúmenes de suero disponibles para su procesamiento que permitan una recuperación de la inversión en un período de tiempo razonable.

Para el caso de volúmenes pequeños, la disposición de suero como alimento animal –previo secado– puede resultar lo más atractivo pues no requiere grandes inversiones ni tecnologías complicadas; probablemente solo un evaporador y un secador de tambor (*drum dryer*). Estos equipos pueden obtenerse de segunda mano a precios no muy elevados.

La recuperación de proteínas es una alternativa igualmente interesante para obtener concentrados o aislados, pero esto requerirá de equipos de filtración por membranas que en general son caros, aunque su precio varía en función de las capacidades de procesamiento.

La proliferación actual de gimnasios y el consumo en aumento de productos para la rápida recuperación corporal sugieren un mercado en expansión que siempre podrá colocar nuevos productores que sean capaces de producirse con los estándares de calidad necesarios. En el mercado norteamericano (USA) por ejemplo un frasco de 2 libras (984 g) se vende en \$44.99. La disposición de permeado rico en lactosa puede ser la alimentación animal mezclado con otros productos disponibles en el mercado local.

Finalmente, la producción de etanol y de proteína microbiana precisa de inversiones mayores que no pueden ser asumidas por pequeños productores. Una alternativa interesante pudiera ser la unión de diferentes productores suficientemente cercanos para evitar los costos de transportación y comenzar una producción conjunta a mayor escala.

Otras producciones que se han estudiado en los últimos años como antibióticos, glicerol por vía fermentativa parecen más lejanos. En el caso de éste último la industria de producción de jabón produce volúmenes importantes de glicerol a partir de sebo de res.

La obtención de grasas microbianas, el llamado single-cell oil, no parece una opción viable por varias razones.

Las cepas de levadura capaces de acumular aceites no están dentro de las que utilizan la lactosa y sería preciso hidrolizar previamente el disacárido o manipular genéticamente estos microorganismos. Adicionalmente, la extracción de aceite de las células precisa la ruptura celular y por último las productividades son en general modestas (Suman *et al* 2015).

Referencias

1. Anon (2012) Final Report The Economic Benefits of the Development of Bioenergy in Ireland
2. Anvari M, Khayati G. (2011) Submerged Yeast Fermentation of Cheese Whey for Protein Production and Nutritional Profile Analysis *Adv JFood Sci Technol* 3(2): 122-126,

4. Baldasso C, Barros TC, Tessaro IC (2011) Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination* 278:381-386
5. Beaulieu J, Dupont C, Lemieux P (2006) Whey proteins and peptides: beneficial effects on immune health. *Therapy* 3:69-78
6. Chandan RC. **Cheeses. Soft and Special Varieties.** In **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), 2003**
7. Chatzipaschali AA, Stamatis AG (2012) Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects. *Energies* 5:3492-3525
8. De Wit JN (2001) Lecturer's Handbook on Whey and Whey Products. 1st edn. European Whey Products Association, Brussels, Belgium <http://ewpa.euromilk.org/nc/publications.html>
9. Domingues L, Guimarães PMR, Oliveira C. (2010) Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for lactose/whey fermentation *Bioeng Bugs*. 1(3): 164–171.
10. Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, Staab JF, Karp JE, Lu K, Zhang SX, Lavallee C, Perl TM, Neofytos D. (2014) Epidemiology of *Candida Kefyr* in Patients with hematologic malignancies *J Clin Microbiol* 52 (6):1830-1837
11. Foegeding EA, Davis JP, Doucet D, McGuffey MK. 2002. Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science y Technology*. 13 (5): 151–159
12. Ghaly AE, Kamal M, Correia LR (2005) Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. *Biores Technol* 96:1143-1152
13. Ghaly AE, Mahmoud N, Rushton D, Arab F. (2007) Potential environmental and health impacts of high land application of cheese whey. *AJABS* 2:106-117.
14. Guimarães PMR, Teixeira JA, Domingues L (2010) Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnol Adv* 28:375-384
15. Joesten MD, Hogg JL, Castellion ME (2006) *The World of Chemistry: Essentials: Essentials*. Thomson Brooks/Cole.
16. Kosikowski FV (1979) Whey Utilization and Whey Products. *J Dairy Sci* 62:1149-1160
17. Krissansen GW (2007) Emerging Health Properties of Whey Proteins and Their Clinical Implications. *JACN* 26:713S-723S
18. Lee-Jones D. (2009) GAIN Report Number:NZ9009 New Zealand Post: Wellington New Zealand Biofuel Report Report Categories: Bio-Fuels
19. Ling C (2008) Whey to Ethanol: A Biofuel Role for Dairy Cooperatives? USDA Rural Development, Research Report 214 <http://www.rurdev.usda.gov/supportdocuments/RR214.pdf>
20. Lipnizki F (2010) Membrane Technology. A Practical Guide to Membrane Technology and Applications in Food and Bioprocessing. Chapter 7 - Membrane Processes for the Production of Bulk Fermentation Products. pp 121-153
21. Macwan SR, Dabhi BK, Parmar SC, Aparnathi KD. (2016) Whey and its Utilization. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 5 (8):134-155
22. Mejía-López A, Rodas S, Baño D. (2017) La desnaturalización de las proteínas de la leche y su influencia en el rendimiento del queso fresco. *Enfoque UTE* 8 (2):121-130
23. Moeini H, Chamran S, Nahvi I, Tavassoli M. (2004) Improvement of SCP production and BOD removal of whey with mixed yeast culture *Electronic J Biotechnol* 7 3:252-258
24. Mollea C, Marmo L, Bosco F. 2013. Valorisation of Cheese Whey, a By-Product from the Dairy Industry: Food industry, Chapter: 24, Publisher: InTECH, Editors: Innocenzo Mazzalupo, pp.549-588
25. Murray BA, FitzGerald RJ (2007) Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins: Biochemistry, Bioactivity and Production. *Curr Pharm Des* 13:773- 791 27
26. Ohr LM (2004) Nutraceuticals and functional foods. *Food Technol* 58:71-74
27. Otero, MA, Saura, G, Wagner, JR, Guerrero, I. (2009) Propagación discontinua de la levadura *Kluyveromyces sp* a partir de suero de queso. *Sobre los Deriv*, 43 (3): 3-7

28. Panesar PS, Kennedy JF, Gandhi DN, Bunko K (2007) Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chem* 105:1-14
29. Parrondo J, Garcia LA, Diaz M. (2009) Whey Vinegar *Vinegars of the World* Chapter 17 pp 273-288
30. Pasotti L, Zucca S, Casanova M, Micoli G, Cusella-De Angelis MG, Magni P. (2017) Fermentation of lactose to ethanol in cheese whey permeate and concentrated permeate by engineered *Escherichia coli*
31. *BMC Biotechnology* 17:48
32. Patel S, Murthy ZVP (2011) Waste valorization: Recovery of lactose from partially deproteinated whey by using acetone as anti-solvent. *Dairy Sci Technol* 91:53-63 28
33. Paterson AHJ (2009) Production and Uses of Lactose. In: McSweeney P, Fox PF (eds) *Advanced Dairy Chemistry*. Springer New York, pp 105-120.
34. Prazeres AR, Carvalho F, Rivas J (2012) Cheese whey management: A review. *J Environ Manage* 110:48-68
35. Qian F, Sun J, Cao D, Tuo Y, Jiang S, Mu G. (2017) Experimental and Modelling Study of the Denaturation of Milk Protein by Heat Treatment *Korean J Food Sci Anim Res.* 37(1): 44–51.
36. Qureshi N, Friedl A, Maddox IS. (2014) Butanol production from concentrated lactose/whey permeate: Use of pervaporation membrane to recover and concentrate product. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:9859-9867.
37. Raganati F, Olivieri G, Procentese A, Russo ME, Salatino P, Marzocchella A (2013) Butanol production by bioconversion of cheese whey in a continuous packed bed reactor. *Biores Technol* 138:259-265
38. Revillion JP, Brandelli A, Ayub MAZ (2003) Production of yeast extract from whey using *Kluyveromyces marxianus*. *Braz Arch Biol Technol* 46:121-128
39. Rivas J, Prazeres AR, Carvalho F, Beltrán F. 2010. Treatment of Cheese Whey Wastewater: Combined Coagulation–Flocculation and Aerobic Biodegradation. *J Agri Food Chem* 58:7871-7877.
40. Rynne M, Beresford P, Kelly L, Guinee P. (2004). Effect of milk pasteurization temperature and in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese. *Int Dairy J* 14 (11): 989-1001.
41. Schultz N, Chang L, Hauck A, Reuss M, Sylatk C (2006) Microbial production of single-cell protein from deproteinized whey concentrates. *Appl Microbiol Biotechnol* 69:515-520
42. Sienkiewicz T, Riedel CL. (1990) Utilization of Whey. *Whey and Whey Utilization*, Ed. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen, 215
43. Singh R. *Membrane Technology and Engineering for Water Purification* (2nd Ed). Application, Systems, Design and Operation. Chapter 1. Introduction to Membrane Technology. 2015, pp. 1-80
44. Smithers GW (2008) Whey and whey proteins-From 'gutter-to-gold'. *Int Dairy J* 18:695-704
45. Suman G, Nupur M, Anuradha S, Pradeep B. 2015. Single Cell Protein Production: A Review *Int J Curr Microbiol App Sci* 4(9): 251-262
46. Svanborg S, Johansen AG, Abrahamsen RK, Skeie SB. 2015. The composition and functional properties of whey protein concentrates produced from buttermilk are comparable with those of whey protein concentrates produced from skimmed milk. *J Dairy Sci.* 98(9):5829-40.
47. Thiele J (2005) Estimate of the energy potential for fuel ethanol from putrescible waste in New Zealand. Waste Solutions Ltd <http://www.bioenergy.org.nz/documents/liquidbiofuels/energy-potential-for-fuel-ethanolfrom-putrescible-waste-in-nz-report-05.pdf>
48. Venetsaneas N, Antonopoulou G, Stamatelatos K, Kornaros M, Lyberatos G (2009) Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresour Technol* 100:3713-3717
49. Walsh G (2014) *Proteins: Biochemistry and Biotechnology*, 2nd edn. Wiley y Sons, London

50. Wijayanti HB, Bansal N, Deeth HC. (2014) Stability of Whey Proteins during Thermal Processing: A Review. *Comprehensive Rev Food Sci Food Safety* 13:1235-1251
51. Wright R. (2008) Low-carbon biofuel is being brewed from cheesemaking leftovers Independent Tuesday 6 November 2007
52. Yang P, Zhang R, McGarvey JA, Benemann JR (2007) Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. *Int J Hydrogen Energy* 32:4761-4771
53. Yang ST, Silva EM (1995) Novel Products and New Technologies for Use of a Familiar Carbohydrate, Milk Lactose. *J Dairy Sci* 78:2541-2562

2 Proteína microbiana a partir de suero de leche (Microbial protein from cheese whey) Miguel Otero

Miguel A Otero-Rambla y Amaury Alvarez Delgado

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Vía Blanca 804 y Carr Central La Habana 11000 Cuba

Resumen

Desde hace más de veinte años algunas especies de bacterias, levaduras y hongos han sido empleadas para la producción de proteína microbiana (PM), a partir de sustratos de bajo valor y residuos como fuente carbonada y energía. El papel de la PM como alimento seguro para animales y humanos, ha sido aún más enfatizado debido a la escasez mundial de proteínas. Aún cuando la PM ha sido comercializada exitosamente por décadas, las diferentes etapas para desarrollar procesos de este tipo no han cambiado. Las condiciones óptimas de propagación, los sustratos potenciales y un amplio rango de microorganismos es aún un blanco perseguido por muchos investigadores. En este artículo los métodos comúnmente empleados para la producción y los diferentes arreglos de propagación sumergida, se destacan como los más apropiados.

Palabras clave: Lactosuero, residuo industrial, biomasa de levadura, condiciones de fermentación, proteína microbiana

Abstract

Since one score ago, some species of bacteria, yeast and fungi have been used to produce protein biomass or single-cell protein (SCP), with inexpensive feedstock and wastes being used as their sources of carbon and energy. The role of SCP as a safe food and feed is being highlighted more because of the worldwide protein scarcity. Even though SCP has been successfully commercialized for decades by now, the different steps to develop such a process have not change. The optimal fermentation conditions, potential substrates, and a broad range of microorganisms is still being pursued by many researchers. In this paper, commonly used methods for the production of SCP and different fermentation systems are briefly reviewed, with submerged fermentation being highlighted as a more commonly used method.

Keywords: Cheese whey, industrial waste, yeast biomass, Fermentation conditions, microbial protein,

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

El suero de leche es un líquido amarillo verdoso subproducto de la fabricación de quesos que queda después de la coagulación y extracción de la caseína y la grasa de la leche entera. Representa alrededor del 85-90% del volumen inicial de leche.

Uno de los usos más atractivos del suero es el desarrollo de productos basados en las proteínas remanentes (Jelen 2009, Boland *et al* 2011, Jeewanthi 2015) para obtener concentrados de proteínas de excelente calidad para consumo animal y/o humano. Este proceso de aislamiento de proteínas requiere de tecnología de membranas (ultrafiltración) para separarlas y rinde un permeado de suero con alto contenido de lactosa y por tanto un elevado poder contaminante (Atra *et al* 2005). El permeado después de la separación de las proteínas es rico en lactosa (39-48 g/L), las cenizas

originales, que no son retenidas por las membranas y un pequeño remanente de proteínas de bajo peso molecular (1-3 g/L) (Paraskevopoulou *et al* 2003, Ghaly *et al* 2005, Kotoupas *et al* 2007).

La industria láctea genera más de 80 millones de toneladas de suero anualmente, por lo que su adecuada disposición es un importante problema medioambiental dado su elevado poder contaminante, la DBO está en el rango de 30000-50000 mg/l mientras la DQO asciende hasta 60000-80000 mg/L lo que hace imposible su disposición directa en curso de agua alguno. La lactosa es, por mucho, el mayor responsable de esta elevada demanda de oxígeno (Paterson 2009, Panesar y Kennedy 2012).

La lactosa presente puede ser utilizada para la producción de proteínas microbianas (MP) empleando levaduras capaces de asimilar este azúcar como las del género *Kluyveromyces* altamente productivas e seguras para el consumo humano (Babu *et al* 2014). Existen también otras levaduras pertenecientes al género *Candida*, especialmente *Candida kefyr* (anteriormente *Candida pseudotropicalis*). Esta última sin embargo, no es aconsejable para el uso a gran escala por los eventos de toxicidad potenciales (Dufresne *et al* 2014).

Las tecnologías de producción de proteína microbiana se empezaron a estudiar como parte de la solución a la escasez de proteínas en el mundo. Estos enfoques evolucionaron posteriormente como procesos de bioconversión para la utilización de desechos o subproductos industriales y la obtención simultánea de productos de alto valor agregado.

Hay que tener en cuenta que a pesar de que las proteínas microbiales se producen a partir de sustratos de bajo valor, o incluso valor negativo por su impacto ambiental, la rentabilidad de estos procesos es aún incierta y altamente dependiente de la escala de producción por el elevado costo de la instalación requerida (Yanav *et al* 2016).

Aún así, cuando se comparan estas proteínas con otras fuentes convencionales, la producción de proteína microbiana en escalas adecuadas presenta numerosas ventajas, a saber:

- Los microorganismos tienen una alta tasa de multiplicación celular
- Poseen contenidos de proteína (Nx6.25) en el entorno de 50%
- Pueden utilizar una amplia gama de sustratos de bajo valor como lactosuero, vinazas de destilación de alcohol, entre otros subproductos y desechos industriales
- Las áreas de producción ocupan poco espacio y producen elevados rendimientos biomasa/sustrato, y
- Son independientes de las variaciones climáticas o estacionales

Un problema a tener en cuenta si el objetivo es el consumo humano, es el alto contenido de ácidos nucleicos en especial ARN (Otero *et al* 2012, Otero y Almazan 2012). Los tratamientos diseñados para reducir su contenido hasta límites aceptables para la salud humana, son difícilmente escalables.

Proceso de producción de proteína microbiana

La implementación de la producción de proteína microbiana transita a través de diferentes pasos

Selección de las materias primas:

Es un aspecto esencial y es preciso enfocarse en la correcta composición de la fuente carbonada de modo que rinda altas producciones de biomasa en el menor tiempo posible.

Los sustratos carbonados para la producción de PM empleados a escalas de laboratorio, planta piloto e industriales pueden clasificarse en tres categorías:

- Fuentes altamente energéticas (gas natural, n-alcanos, gas-oil, metanol, etanol, ácido acético);
- Desechos o subproductos industriales (melazas de caña, licores negros papeleros, lactosuero, desechos de frutas, etc), y
- Recursos renovables (azúcares, almidón, celulosa)

En el caso que nos ocupa, el lactosuero, pertenece a la segunda categoría y es el sustrato a emplear.

Es pertinente aclarar que en la medida que el sustrato real, en el caso del suero la lactosa, está más oxigenado, menores serán los requerimientos de transferencia de oxígeno al medio y por tanto menor el gasto de energía para lograrlo.

Selección de microorganismos:

Este es un paso fundamental en el proceso de producción, todo el trabajo lo hará el microorganismo inoculado, por tanto, su selección debe ser muy cuidadosa. Este debe cumplir varios requisitos, a saber:

- altos rendimientos biomasa/sustrato.
- altas tasas de duplicación celular, y
- un elevado contenido de proteínas.

Lo más conveniente es seleccionar las cepas a estudiar de la propia flora natural de la fuente de carbono y energía a utilizar. Estas poblaciones ya traen adelantada la adaptación al sustrato. No es recomendable el empleo de microorganismos modificados genéticamente pues existe la posibilidad de reversión de la mutación durante el proceso. Un método empleado en la selección de microorganismos es el uso de corridas en cultivo continuo por tiempos prolongados y seleccionar las poblaciones que prevalecen en el tiempo y muestran las mejores condiciones de producción (Arai *et al* 2003).

Ingeniería de proceso:

Las condiciones técnicas de cultivo para las cepas optimizadas se llevan a cabo a través de estudios de propagación bajo diferentes condiciones a escala de banco (2-5L) y se determinan las rutas metabólicas de asimilación de sustrato, en caso de no ser conocidas, así como las estructuras y el contenido celular.

El proceso en algunos casos precisa ser escalado a escala de planta piloto para establecer los parámetros tecnológicos y obtener datos fidedignos para el estudio económico del proceso.

Desarrollo de tecnología:

Este es el siguiente paso en el que se adopta la tecnología a seguir.

- Modo de producción continuo, lotes alimentados (*fed batch*) o por lotes (*batch*).
- Temperatura del proceso. Este es un parámetro de vital importancia y debe estar cercana al óptimo del microorganismo. Sin embargo, la generación de calor biológico en el proceso tiende al incremento de la temperatura y deben instalarse sistemas de refrigeración para mantenerla dentro de límites razonables para las células y la economía del proceso.
- pH. Los microorganismos presentan valores óptimos de pH entre 5 y 7. Este debe mantenerse dentro del rango para garantizar un desarrollo estable de las células. Uno de los productos del metabolismo celular son los ácidos orgánicos de cadena corta (acético, propiónico etc) y por tanto el pH tiende a bajar, así, no se puede dejar flotar libremente este parámetro pues iría en detrimento del proceso.
- Transferencia de oxígeno (agitación). Es consumidor importante de energía
- Adición de antiespumante al cultivo. Esto evita los procesos de cavitación en bombas y separadoras.
- En el caso del cultivo continuo, el flujo de alimentación debe ser óptimo. Flujos bajos incrementan los tiempos de retención y obligan a capacidades de reactores mayores, flujos muy altos pueden producir el lavado del sistema (*wash out*) ante cualquier cambio fortuito. Debe tenerse en cuenta que la tasa de alimentación al sistema en el modo continuo establece la tasa de crecimiento de la población microbiana por lo que el proceso transcurre a tasas de crecimiento inferiores a la máxima.

Factores económicos asociados:

Consumo energético y los costes de producción son los factores más importantes para un proceso a gran escala. Esta por tanto debe ser cuidadosamente establecida en función de los costes y la eficiencia del proceso.

Demandas de seguridad y protección ambiental:

Desde que la MP se produce para la alimentación animal o bien directamente para humanos, la seguridad del producto debe quedar fuera de toda duda. En el caso del suero existe la ventaja que las levaduras capaces de utilizar eficientemente la lactosa son del tipo GRAS (*Generally Regarded As Safe*). Una vez que el proceso pasa a la escala de producción se precisa un seguimiento exhaustivo de la presencia de contaminantes en el cultivo, a menos que este se lleve a cabo en condiciones de esterilidad, no recomendables por su alto coste.

La disposición de los residuos finales deben ser objeto de estudio igualmente a fin de cumplimentar las regulaciones ambientales de cada país. Como en general se emplean fuentes carbonadas contaminantes, el proceso tiene la ventaja de servir al mismo tiempo como tratamiento primario de éstas (Chatzipaschali y Stamatis 2012, Chanfrau *et al* 2017).

Resultados**Factores de influencia en la producción de proteína microbiana****Fuente de carbono**

El lactosuero es rico en lactosa, un disacárido constituido por glucosa y galactosa unidas por enlaces β -1,4 glicosídicos. La Fig 1 muestra la estructura de la lactosa

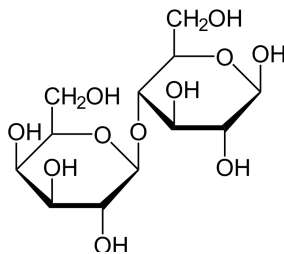


Fig 1 Estructura del disacárido lactosa

El contenido de lactosa en suero varía en función del tipo de leche pero en general se encuentra en el entorno de 50 g/L (Ryan y Walsh 2016). El sustrato, si bien no requiere un tratamiento severo antes de su empleo, no debe ser utilizado directamente. El contenido de proteínas remanente después de la fabricación de queso (ver Tabla 1) está en el entorno de 9-10 g/L. Estas proteínas solo van a la zaga en calidad nutricional a las del huevo entero. En general, el valor biológico (BV), la razón de eficiencia proteica (PER) y la utilización neta de proteínas (NPU) de las proteínas de huevo y suero son 104 y 100, 3.6 y 3.8 y 92 y 94 respectivamente (Smithers 2008). De ahí que sea preferible la separación previa de las proteínas por membranas seguida de secado por atomización y obtener a partir de éstas un polvo comercializable en forma de concentrado (< 85%) o aislado (> 90%), conveniente para la economía global del proceso.

No obstante, es posible también la utilización directa del suero sin previa separación de las proteínas presentes pues los microorganismos son capaces de utilizarla en una proporción importante. A pesar que el suero es rico también en aminoácidos esenciales como lisina, metionina y cisteína (Smithers 2008), es un sustrato pobre en cuanto a su contenido de otros nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano, por lo que es precisa su suplementación (Macawan *et al* 2016).

La Tabla 1 muestra la composición típica de suero de leche.

Tabla.1 Composición típica del suero de leche*

Componente	Suero dulce	Suero ácido	Chana/Paneer
Total solids (%)	7.0	7.0	6.5
Fat (%)	0.3	0.1	0.5
Protein (%)	0.9	1.0	0.4
Lactose (%)	4.9	5.1	5.0
Ash (%)	0.6	0.7	0.5

*Gupta, 2000

Un producto disponible ampliamente en la industria azucarera son las melazas de caña, subproducto de la cristalización de la sacarosa. Las melazas se han empleado sistemáticamente en Cuba, para el enriquecimiento de vinazas de destilación de alcohol para la producción de biomasa utilizando la levadura *Candida utilis* a escala industrial (Otero *et al* 2003, Martínez *et al* 2004). Los autores emplearon como criterio de formulación del medio de propagación el valor de DQO en vinazas y melazas, proponiendo una composición de medio de 80:20 respectivamente. En el caso del suero se puede aplicar un enfoque similar si se tiene en cuenta que las vinazas de destilación de etanol presentan un valor de DQO entre 60-80 mg/L (Otero *et al* 2002). Las melazas de caña por su parte, han sido empleadas como única fuente de carbono en la producción de etanol en sus dos etapas (propagación aeróbica de levadura y fermentación alcohólica) con la sola suplementación de sales de amonio, lo que demuestra la riqueza de este sustrato.

La Fig 2 muestra el comportamiento de la propagación de *Candida utilis* en mezclas vinazas-melazas (80:20 sobre DQO).

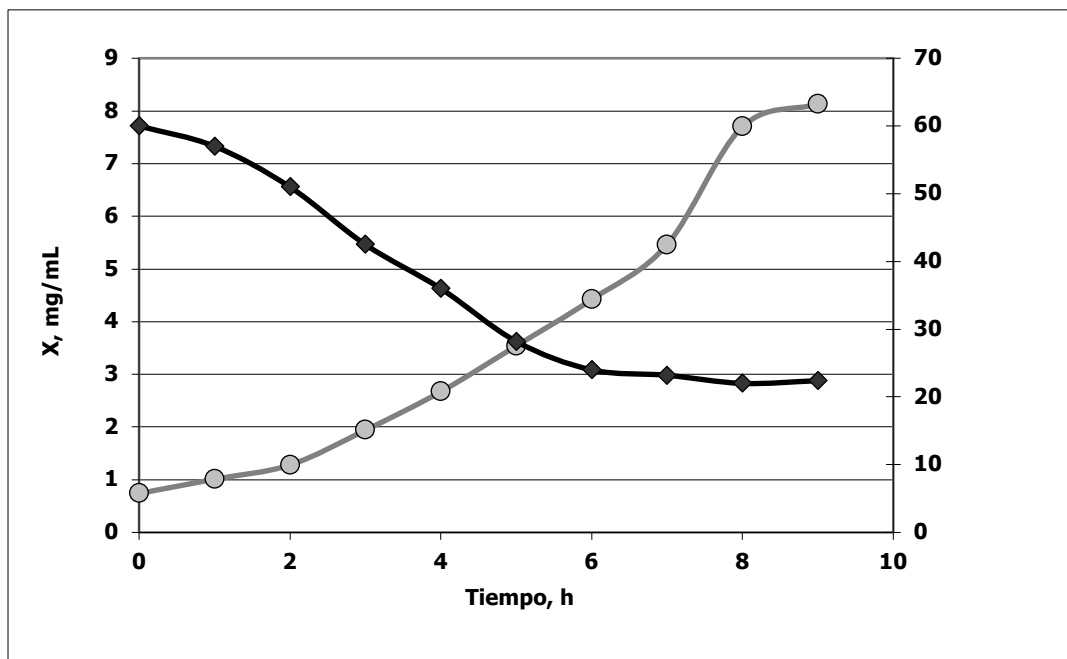


Fig 2 Cinética de crecimiento celular de *C. utilis* en mezclas vinazas-melazas (80:20 base DQO). El proceso se basa en un medio con DQO = 50 000 mg/L

Esta combinación funciona igualmente para el suero libre de proteínas con resultados incluso superiores. Es de esperar incluso resultados superiores, si se tiene en cuenta que el lactosuero es más rico que las vinazas por su alto contenido de lactosa.

Otero *et al* (2009) reportaron reportado el consumo de lactosa por especies de *Kluyveromyces spp.* Los autores obtuvieron concentraciones de levadura utilizando solamente lactosuero suplementado con sales de amonio y de 7 g/L después de 10 horas de propagación. Se ha reportado igualmente el consumo de lactosa y proteínas de lactosuero por células de levadura del mismo género *Kluyveromyces* (Koushki et al 2012, Zoppellari y Bardi 2013). Estos autores observaron un consumo de lactosa superior a 95% del contenido inicial, en tanto que el consumo de proteínas por las células fueron en el entorno de 70.00%.

La reducción de DQO fue también un resultado a destacar en estos estudios. La Fig 3 muestra resultados análogos obtenidos por Murari *et al* 2017.

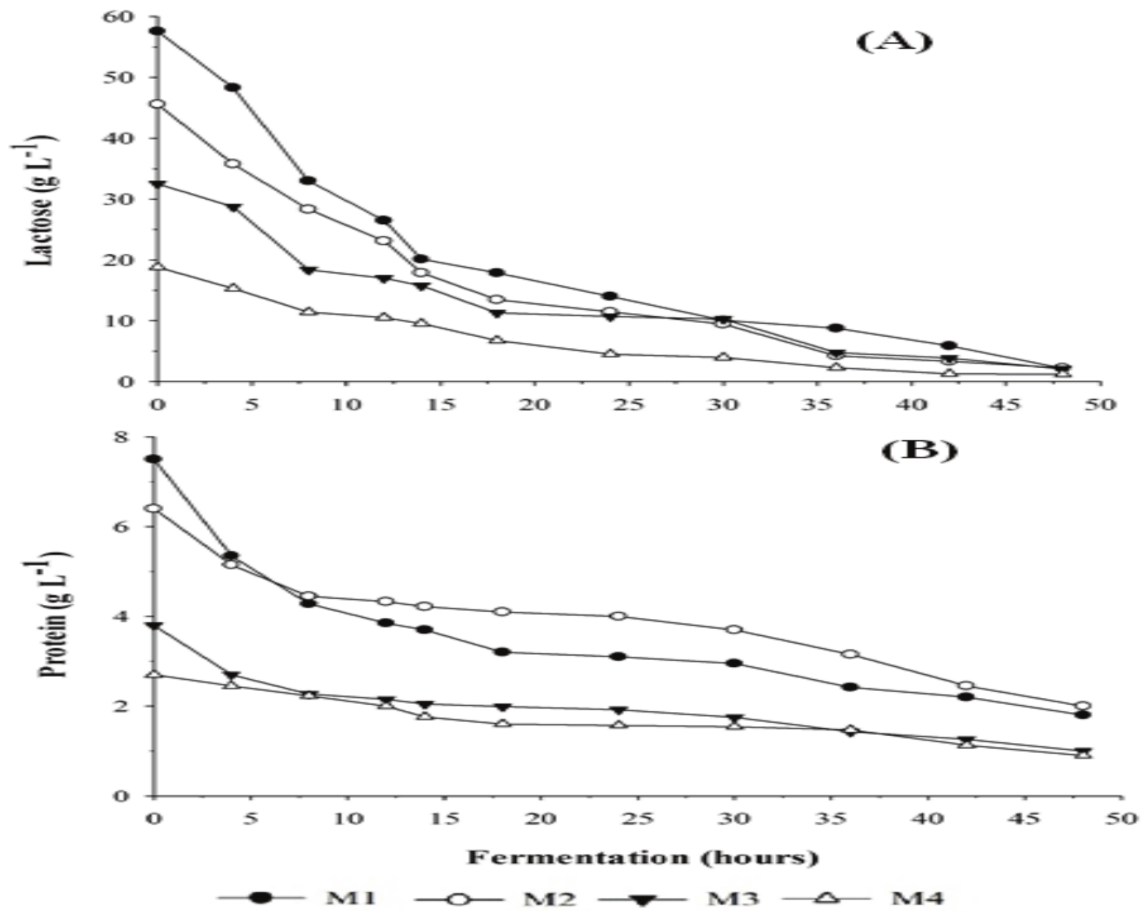


Fig 3 Consumo de lactosa (A) y proteína (B) por *K. marxianus* en diferentes concentraciones de suero después de 48 horas de cultivo (Murari *et al* 2017).

Con relación a DQO presente en el medio inicial, la Fig 4 muestra los resultados obtenidos por estos autores.

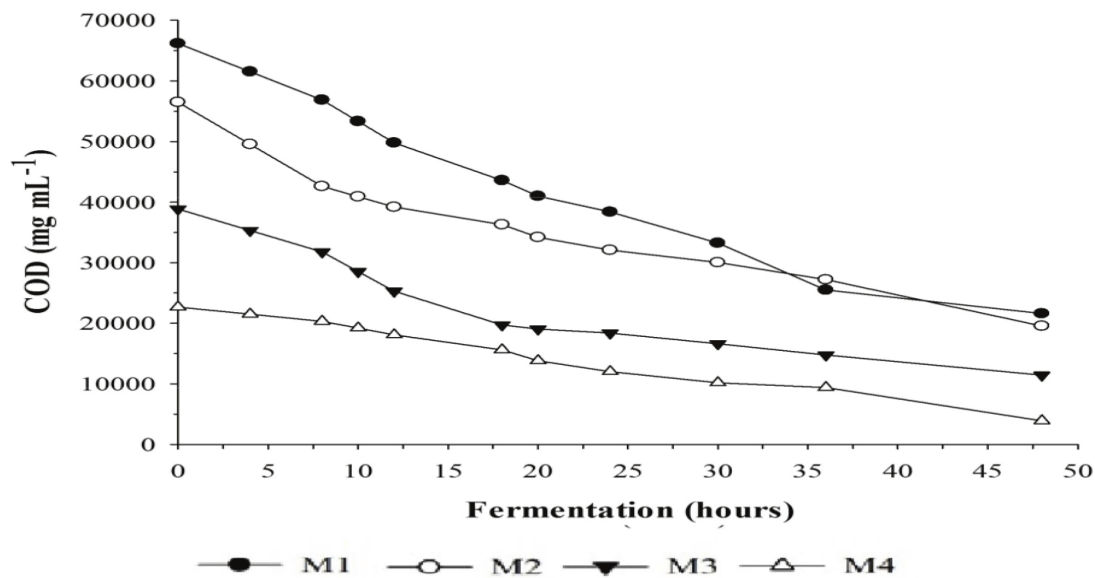


Fig 4 Reducción de DQO durante la propagación de *K. marxianus* en suero de leche crudo (Zoppellari y Bardi 2013)

Fuente de nitrógeno

Debido a las propiedades estructurales de las células, es preciso suplementar el medio con fuentes de nitrógeno para garantizar la síntesis de proteínas. La biomasa se calcula para 50% de proteína cruda ($N \times 6.25$) y por tanto la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo debe ser la suficiente para estos propósitos. Estas fuentes pueden ser de origen orgánico o inorgánico. Se prefieren las últimas, sin embargo, por su menor costo. Las fuentes de nitrógeno más empleadas son amonio como tal, urea y sales de amonio (Reihani y Khosravi-Darani 2019). No todas las fuentes conducen a los mismos resultados en cuanto a rendimiento y productividad. Cuando se empleó urea como fuente de nitrógeno en la producción de *Candida utilis* se obtuvieron valores bajos de concentración celular en comparación con otras fuentes como sulfato de amonio (Zhao *et al* 2010). No obstante el empleo de urea combinada con sales de amonio permite controlar el pH en el entorno de 4 lo que es favorable para limitar las contaminaciones por bacterias ambientales si el proceso se lleva a cabo en cultivo continuo.

En la utilización de suero como sustrato puede emplearse una composición de medio parecida al de la producción a partir de vinazas de destilación (Otero *et al* 2002) empleando sulfato de amonio y fosfato de amonio como fuentes de nitrógeno y fósforo en concentraciones similares a las utilizadas en esta tecnología.

Aeración

La aeración es una operación importante en el cultivo sumergido pues es la vía de absorción de oxígeno por los microorganismos en la propagación aeróbica. Como se ha mencionado anteriormente mientras más reducido está el sustrato (menos oxígeno en su composición) mayor el rendimiento, pero mayor también la cantidad de oxígeno requerida para su completa oxidación a CO_2 y agua y mayor energía para transferirlo al medio.

Se ha reportado (Nanou *et al* 2011) que la morfología del microorganismo juega un rol esencial en la absorción de oxígeno (Fonseca *et al* 2007). Un estudio realizado ha demostrado que la mejor tasa de aeración (volumen de aire/volumen de medio/minuto -vvm) y el oxígeno disuelto para producir un

mayor rendimiento de *Candida utilis* fueron de 1 vvm y 50% respectivamente (Rajoka *et al* 2006). Un trabajo posterior (Anvari y Khayati 2011) con diferentes cepas de *Kluyveromyces spp.* mostraron que los mayores rendimientos se obtuvieron con una aeración de 1 vvm.

Temperatura y pH

Ya hemos visto la influencia de la temperatura sobre el crecimiento de los microorganismos y por tanto en la productividad del proceso de producción de MP (Rao *et al* 2010, Ferreira *et al* 2014). Aunque se ha reportado la temperatura ambiente como la óptima para la mayoría de los microorganismos, en el caso de las levaduras como es el caso de *K. marxianus* este valor es significativamente superior y se encuentra entre 33 and 35°C (Ghaly *et al* 2005, Zhao *et al* 2010).

El consumo de lactosa por la levadura requiere de la secreción de la enzima lactasa (β -galactosidasa). Por tanto, las condiciones para una expresión óptima de esta enzima son las del crecimiento del microorganismo y coinciden con las reportadas previamente.

La Tabla 2 muestra el efecto de pH y temperatura sobre la producción de β -galactosidasa producida sobre suero.

pH	Actividad enzimática UI/g peso seco	Temperatura, °C	Actividad enzimática UI/g peso seco
4.0	1370	20	1330
4.5	1460	25	1470
5.0	1490	30	1490
5.5	1480	35	1370
6.0	1440	40	250

Tabla 2. Efecto de pH y temperatura sobre la producción de β -galactosidasa por *Kluyveromyces marxianus*

Conclusiones

De acuerdo con los estudios realizados por diferentes autores, los factores de mayor influencia en la propagación de biomasa de levadura a partir de suero de leche son los mencionados anteriormente. La selección y aislamiento del (los) microorganismo a emplear debe ser llevada a cabo a partir del sustrato y sus poblaciones autóctonas.

El empleo de cepas certificadas no siempre es recomendable pues la adaptación al sustrato específico no está garantizada y sería preciso además pagar por esta.

Otros factores como temperatura y pH dependerán de los estudios a escala de banco (2-5L) pero en general se pueden establecer en el entorno de pH 3.5-4.5 y temperatura entre 33 y 35°C.

La agitación y aeración deben ser objeto especial de estudio por cuanto son de primordial importancia en la economía del proceso por el consumo energético.

Dado que la mayoría de los estudios se han realizado a escala de banco (< 2L) el escalado a planta piloto, 250-1000L, puede aclarar la influencia de estos parámetros en el proceso global.

Si como se puede suponer, el suero muestra un comportamiento similar al de las vinazas de destilación de alcohol, los resultados cinéticos obtenidos a escala de banco pueden trasladarse sin etapas intermedias a nivel industrial, no así para los consumos de energía.

Un aspecto que no debe olvidarse es la disponibilidad de suero de manera estable para alimentar esta producción durante la mayor parte del año. A estos efectos la posibilidad de asociación de varios productores cercanos puede ser un enfoque apropiado y por tanto sería conveniente estudiar la posibilidad de mezclar diferentes sueros y su influencia en los resultados del proceso.

El cultivo continuo parece ser el modo de propagación más prometedor, no obstante no es descartable el uso del modo de lotes alimentados (*fed batch*) para la reducción de la contaminación por microorganismos indeseados.

Referencias

1. Anvari M, Khayati G. 2011. Submerged yeast fermentation for cheese whey for protein production and nutritional profile analysis. *Adv J Food Sci Technol* 3 (2):122-126
2. Arai F, Ichikawa A, Fukuda T, Katsuragi T. 2003. Continuous culture and monitoring of selected and isolated microorganisms on a chip by thermal gelation 7th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysts Systems October 5-9, Squaw Valley, California USA
3. Atra R, Vatai G, Molnar BE, Balint A. 2005. Investigation of ultra- And nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *J Food Eng* 67: 325332
4. Boland M. 2011 Whey proteins. In: Phillips GO, Williams PA, Handbook of Food Proteins. Elsevier, USA.
5. Chanfrau JMP, Pérez JN, Fiallos MVL, Rivera L, Abril VH, Guerrero MJC, Toledo LET. 2017. Milk Whey- From a Problematic Byproduct to a Source of Valuable Products for Health and Industry: An Overview from Biotechnology *Prensa Med Argent* 103 (4)
6. Chatzipaschali AA, Stamatis AG. (2012) Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. *Energies* 5: 3492-3525; doi:10.3390/en5093492energies ISSN 1996-1073 www.mdpi.com/journal/energies
7. Dufresne SF, Marr KA, Sydnor E, Staab JF, Karp JE, Lu K, Zhang SX, Lavallee C, Perl TM, Neofytos D. (2014) Epidemiology of *Candida Kefyr* in Patients with hematologic malignancies *J Clin Microbiol* 52 (6):1830-1837
8. Ferreira JA, Lennartsson PR, Taherzadeh MJ. 2014. Production of ethanol and biomass from thin stillage using food-grade *Zygomycetes* and *Ascomycetes filamentous* fungi. *Energies* 7 (6):3872-3885
9. Fonseca GG, Gombert AK, Heinzle E. 2007. Physiology of the yeast *Kluyveromyces marxianus* during batch and chemostat cultures with glucose as the sole carbon source . *FEMS Yeast Res* 7 (3):422-435
10. Ghaly A E, Kamal M, Correia LR. 2005. Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. *Bioresource Technol.*, 96, 1143-1152.
11. Grba S, Stehlik-Tomas V, Stanzer D, Vahèia N, Škrilin A. 2002. Selection of Yeast Strain *Kluyveromyces marxianus* for Alcohol and Biomass Production on Whey. *Chem Biochem Eng Q.* 16 (1):13-16
12. Gupta VK. 2000. Overview of processing and utilization of dairy by products. *Indian Dairyman* 52: 55-59. Jeewanthi RKC, Lee NK, Paik HD. 2015. Improved Functional Characteristics of Whey Protein Hydrolysates in Food Industry. *Korean J Food Sci Anim Resour* 35: 350-359.
13. Jelen P. 2009. Dried Whey, Whey Proteins, Lactose and Lactose Derivative Products, Dairy Powders and Concentrated Products Society of Dairy Technology. John Wiley & Sons, USA.
14. Kotoupas A, Rigas F, Chalaris M. 2007. Computer-aided process design, economic evaluation and environmental impact assessment for treatment of cheese whey wastewater. *Desalination*, 213, 238-252.
15. Koushki M, Jafari M, Azizi M. 2012. Comparison of ethanol production from cheese whey permeate by two yeast strains. *J Food Sci Technol* 49(5), 14-619.
16. Macwan SR, Dabhi BK, Parmar SC, Aparnathi KD. 2016. Whey and its Utilization *Int J Curr Microbiol App Sci* 5(8): 134-155
17. Martínez JA, Almazan OA, Saura G, Otero MA. 2004 Production of fodder yeast from stillage in Cuba: an environmental approach *Zuckerindustrie* 129 (2):92-95
18. Murari CS, Moraes Niz da Silva DC, da Silva BL, Del Bianchi VL. 2017. Influence of the nutrient concentrations of whey on ethanol and biomass production and COD reduction *Acta Scientiarum Technol* 39, 05, 2017

19. Nanou K, Roukas T, Papadakis E. 2001. Oxidative stress and morphological changes in *Blakeslea trispora* by enhanced aeration during carotene production in a bubble column reactor. *Biochem Eng 54 (3):172-177*
20. Otero MA, Saura G, Valdes IF, Peña MA, Martínez JA, Pascual A. 2002. Análisis operacional del complejo destilería-planta de levadura del CAI Antonio Guiteras. Parte II *Sobre los deriv 36 (2):7-10*
21. Otero MA, Saura G, Martínez JA, Fundora N, Reyes E, Vasallo MC, Almazan OA. 2003 Propagation of yeast biomass from distillery wastes. Process and product evaluation *Int Sugar J 105 (1249):36-39*
22. Otero, MA, Saura G, Wagner JR, Guerrero I (2009) Propagación discontinua de la levadura *Kluyveromyces sp* a partir de suero de queso *Sobre los Deriv 43 (3):3-7*
23. Otero MA, Almazán OA, Álvarez A. 2012. La proteína unicelular. Microorganismos, sustratos y fermentadores Editorial Académica Española, LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG. Heinrich-Böcking-Str. 6-8 D - 66121 Saarbrücken ISBN 978-3-8484-7077-8
24. Otero MA, Almazán OA. 2012. Las levaduras como base de una industria. Diferentes aplicaciones Editorial Académica Española, LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG. Heinrich-Böcking-Str. 6-8 D - 66121 Saarbrücken ISBN 978-3-659-02736-9
25. Panesar PS. 2008. Production of β -galactosidase from whey using *Kluyveromyces marxianus*. *Res Microbiol J 3 (1):24-29*
26. Panesar PS, Kennedy JF. 2012. Biotechnological approaches for the value addition of whey. *Crit Rev Biotechnol 32: 327-348*
27. Paraskevopoulou A, Athanasiadis I, Kanellaki M, Bekatorou A, Blekas G, Kiosseoglou V. 2003. Functional properties of single cell protein produced by kefir microflora. *Food Res. Int.*, 36, 431-438.
28. Paterson AHJ. 2009. Production and uses of lactose. *Adv. Dairy Chem 3: 105120*.
29. Rajoka MI, Khan SH, JKabbar MA. 2006. Kinetics of batch single cell protein production from rice polishing with *Candida utilis* in continuously aerated tank reactor. *Biores Technol 97 (15):1934-1941*
30. Rao M, Varma AJ, Deshmukh SS. 2010. Production of single cell protein, essential aminoacids, and xylanase by *Penicillium janthinellum*. *Bioresources 5:2470-2477*
31. Reihani FS, Khosravi-Darani K. 2019. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: a review. *Elect J Biotechnol 37:34-40*
32. Ryan MP, Walsh G. 2016. The biotechnological potential of whey. Article in *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* · August DOI: 10.1007/s11157-016-9402-1
33. Smithers GW (2008) Whey and whey proteins-From 'gutter-to-gold'. *Int Dairy J 18:695-704*
34. Suman G, Nupur M, Anuradha S, Pradeep B. 2015. Single Cell Protein Production: A Review *Int J Curr Microbiol App Sci 4(9): 251-262*
35. Waites MJ, Morgan, Rockey JS, Higton G. 2001. Industrial microbiology: an introduction. Blackwell Publishing, UK, 14, 219-223.
36. Yadav JSS, Yan S, Ajila CM, Bezawada J, Tyagi RD. 2016. Food-grade single-cell protein production, characterization and ultrafiltration recovery of residual fermented whey proteins from whey. *Food Bioprod Process 99: 156165*.
37. Zhao G, Zhang W, Zhang G. 2010. Production of SCP using waste capsicum powder produced during capsanthin extraction. *Letters Appl Microbiol 50 (2):187-191*
38. Zoppellari F, Bardi L. 2013. Production of bioethanol from effluents of the dairy industry by *Kluyveromyces marxianus*. *New Biotechnol 30(6), 607-613*.

3 Producción de bebida energizante para el aprovechamiento integral del suero lácteo (Production of energy drink for the integral use of cheese whey) Anahí Cuellas

Anahí Virginia Cuellas

Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina

Email: acuellas@gmail.com

Resumen

Se estudió la factibilidad para elaborar diferentes productos a partir de suero de queso. Los resultados mostraron que el desarrollo de una bebida energizante representa un proceso simple para obtener productos de alto valor agregado y utiliza todos los componentes del suero lácteo. Experimentalmente, se hidrolizó la lactosa presente al 80% y se formularon bebidas frutales. Éstas fueron evaluadas mediante pruebas sensoriales descriptivas, mostrando mejores características organolépticas para la bebida sabor naranja. Los análisis microbiológicos realizados en la bebida láctea se ajustaron a los valores solicitados por el Código Alimentario Argentino para leches UAT. Se concluye que la elaboración del producto no presenta dificultades tecnológicas, reduce la contaminación ambiental y aprovecha el valor nutricional del efluente.

Palabras clave: Efluente, industria láctea, hidrólisis, lactosa.

Abstract

The feasibility to elaborate different products from whey of cheese was studied. The results showed that the development of an energy drink represents a simple process to obtain products of high added value and uses all serum components. Experimentally, the lactose was hydrolyzed to 80% and fruit drinks were made. These were evaluated by descriptive sensory tests, showing better organoleptic characteristics for orange-flavored drink. The microbiological analyses carried out in the milk drink were consistent with the values requested by the Argentine Food Code for milk UHT milk. We conclude that the development of the product has not technological difficulties, reduce environmental pollution and takes advantage of the nutritional value of the effluent.

Keywords: Effluent, dairy, hydrolysis, lactose

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

La industria láctea conforma uno de los complejos agroalimentarios más importantes y dinámicos dentro de la economía mundial, constituyendo un motor fundamental para las economías regionales, donde conviven grandes, medianas y pequeñas empresas.

La industria quesera produce grandes volúmenes de suero lácteo, único subproducto remanente en el proceso de elaboración. Por cada kg de queso, se producen aproximadamente 9 litros de efluente, desechado casi en su totalidad, incrementando los niveles de contaminación (Cuellas, 2008; Miranda, 2007; González-Martínez et al., 2002). El 45% del suero lácteo, proveniente en su mayoría de grandes industrias, se procesa, mientras que el 55% restante, producido en medianas y pequeñas queseras, se destina a la alimentación animal o se vuelca como deshecho industrial a lagos, lagunas y ríos

aledaños. Por cada 1000 litros de lactosuero se generan cerca de 35 kg de demanda biológica de oxígeno (DBO) y cerca de 68 kg de demanda química de oxígeno (DQO), lo que se traduce en un marcado incremento en los niveles de contaminación. (Jelen, 1979; Cuellas, 2010; González Cáseres, 2012)

Por otro lado, el suero lácteo posee un alto valor nutritivo, contiene más del 50% de los sólidos de la leche, incluyendo proteínas, lactosa, minerales y vitaminas (Atra et al., 2005; Smithers, 2008). El poder contaminante del suero lácteo y su atractivo valor nutricional han impulsado investigaciones que permitan su empleo en el desarrollo de ingredientes y productos alimenticios. Sin embargo, el pequeño y mediano productor quesero no dispone de recursos ni de equipos industriales para el tratamiento del efluente (Monsalve y González, 2005).

El lactosuero está constituido principalmente por lactosa, un azúcar relativamente insoluble, de bajo poder edulcorante, que no siempre puede ser absorbida por el sistema digestivo humano. De esta forma la hidrólisis de la lactosa es de vital importancia para el empleo del efluente en la industria alimenticia, ya que produce glucosa y galactosa, una mezcla que presenta mayor solubilidad, mayor poder edulcorante y es de fácil absorción por la mucosa digestiva (Zadow, 1984; Barnes, 1994; Cuellas, 2005).

Las características y composición del efluente permiten diseñar un abanico de opciones para el desarrollo de productos alimenticios. En la tabla 1, se presentan una serie de productos que pueden obtenerse a partir del suero de quesería. El criterio de selección para la elaboración de algunos de estos productos debe adecuarse a las necesidades y posibilidades de los establecimientos queseros y considerar aspectos fundamentales, como el costo del proceso, el tiempo de producción y la posibilidad de ingresar el producto obtenido en el mercado. Este trabajo incluye un estudio de pre factibilidad para la elaboración de distintos productos en base a suero de quesería y una segunda etapa experimental en la que se desarrolla la formulación del producto seleccionado.

TABLA 2: Posibles productos obtenidos a partir del Suero Lácteo

PRODUCTOS	DESCRIPCIÓN	ELABORACIÓN
Requesones o Ricotta	Se aprovechan solamente las propiedades nutricionales de las proteínas, no las funcionales. Se pueden comercializar como tales o se pueden usar para reemplazar parcial o totalmente el queso para untar.	<ul style="list-style-type: none"> • Temperaturas entre 70 y 80° C de 30 minutos. • Precipitación de las proteínas por adición de cuajo. • Adición de cloruro de calcio.
Quesos tipo Mysost	Se emplean todos los sólidos del lactosuero Comprenden una familia de productos cuya composición, textura y color es variable. Baja inversión.	<ul style="list-style-type: none"> • lactosuero fresco, o lactosuero enfriado rápidamente para minimizar el desarrollo de acidez. Su tecnología es un proceso de concentración de sólidos, casi idéntica a la de fabricación de dulce de leche
yogurt	Reemplazo de leche por suero lácteo Se pueden elaborar a base de lactosueros o permeado	Su tecnología es la misma que la elaboración de yogurt
Bebidas	Se pueden elaborar a base de lactosueros o permeado Son bebidas nutritivas de bajo costo	<ul style="list-style-type: none"> • Bebidas pasteurizadas, homogenizadas, con pH ajustado a 6.6 - 6.7. • Se recomienda el envasado caliente, bajo condiciones de calidad microbiológica controlada.

Materiales y Métodos

1. Estudio de pre-factibilidad para la elaboración de productos a partir del suero

En el estudio de factibilidad se incluye el análisis de aspectos considerados fundamentales para la elaboración de productos alimenticios a partir del suero, como: nivel de aprovechamiento, tiempo y costo de producción, reducción de contaminación y aceptación para distintos productos (Ricotta, Concentrado proteico, quesos tipo Mysost y bebidas).

2. Desarrollo del producto

Obtención de jarabes de lactosa con distintos grados de hidrólisis: La bebida se formuló en base a suero de queso en polvo sin desmineralizar (Lácteos Vidal S.A), reconstituido al 5% p/v de lactosa, tal como se encuentra naturalmente en el efluente. La hidrólisis enzimática de lactosa se realizó en Batch por acción de la enzima β -galactosidasa (Lactozym 3000 I Novo Nordisk) a 37 °C, pH 6.8-7 y se frenó con la adición de ácido cítrico, hasta alcanzar pH 4. Dependiendo del tiempo de contacto de la enzima con el suero lácteo, se obtuvieron hidrolizados de lactosa de 20%, 50% y 80%. El grado de hidrólisis se determinó midiendo la concentración de glucosa liberada por dosaje enzimático mediante un kit de glucemia (Wiener Lab.), midiendo la absorbancia a 505 nm y comparando con un estándar.

2.1. Formulación de la bebida:

Luego de determinar que el suero hidrolizado al 80% presenta mejores aptitudes para la elaboración del producto, se formularon bebidas en base a este jarabe, adicionando benzoato de sodio, sacarosa y mezclas aditivas (saborizante y colorante) de naranja (formulación I), pomelo (formulación II) y frutilla (formulación III).

2.2. Evaluación de las características organolépticas a partir de panel sensorial:

La evaluación de la magnitud de los atributos sensoriales (aroma, color, sabor y consistencia) de las bebidas formuladas se realizó mediante pruebas sensoriales descriptivas, empleando una escala estructurada de tres puntos (Débil-Medio-Bueno). Para tal fin se entrenó un panel de 20 jueces, conformado por estudiantes y docentes de la Universidad Nacional de Quilmes.

2.3. Análisis microbiológicos:

La bebida formulada se somete a los siguientes controles microbiológicos: Recuento de Coliformes totales a 30 °C - NMP (ICMSF, 2000). Recuento de Coliformes Fecales y E. Coli. Recuento de Mesófilos Totales (ICMSF, 1983). Recuento de S. Aureus (Met. 975.55 AOAC 1995).

Estos controles se realizan al finalizar el proceso de elaboración a escala laboratorio, se almacena el producto a 4-5 °C y se repiten los análisis en los días 15 y 30. Todos los ensayos microbiológicos se realizaron por triplicado.

Resultados y Discusión

1. Estudio de pre-factibilidad para la elaboración de productos a partir del suero de quesería:

De acuerdo a las características de las opciones analizadas (Tabla 1), se ha determinado que los productos que presentan mayores ventajas y mayor oportunidad de aceptación son la bebida energizante y el yogurt. Sin embargo, la primera, permite un uso integral del efluente y tiene la capacidad de re utilizar los volúmenes de suero lácteo producidos en pequeñas y medianas plantas queseras. Productos similares como bebidas isotónicas y energizantes responden a la nueva tendencia de consumo de alimentos naturales y funcionales, constituyendo un mercado en expansión. Por otro lado, el proceso de elaboración de la bebida utiliza de forma integral los recursos, emplea una tecnología sencilla de implementar y reduce casi en su totalidad el impacto ambiental generado por este efluente (Inda Cunningham, 2000).

Producto	Nivel de aprovechamiento	Tiempo y costo de producción	Reducción de contaminación	Aceptabilidad del producto
Ricotta	Medio / bajo	Mediano	Bajo	Mediana
Queso tipo Mysot	Alto	Mediano	Alta	Baja
Yogurt	Medio / alto	Mediano	Alta	Alta
Bebida Isotónica	Alto	Bajo	Alta	Alta

TABLA 2. Posibles productos obtenidos a partir del Suero Lácteo

2. Desarrollo del producto

Determinación del grado de hidrólisis: La elección del jarabe que se utilizó como base en la formulación se relacionó con la cantidad necesaria de sacarosa que se debe adicionar al producto final para conferirle un sabor dulce. Las bebidas formuladas con sueros hidrolizados al 80%, 50% y 20% de conversión de la lactosa tendrán composición constante en todos los ingredientes menos en sacarosa, que requerirá una adición baja, media y alta, respectivamente. Teniendo en cuenta la solubilidad, el poder edulcorante y la digestibilidad de los azúcares, a mayor grado de hidrólisis la bebida presentará ventajas nutricionales y tecnológicas, por contener una mayor proporción de monosacáridos y menor sacarosa y lactosa (lo que favorece la rápida absorción y una menor respuesta insulínica) y un menor costo de producción.

Evaluación sensorial

En los Gráficos 1, 2 y 3 se muestran los resultados del estudio organoléptico descriptivo sobre las características sensoriales de las tres bebidas formuladas (naranja, pomelo, frutilla) a partir de lactosuero hidrolizado al 80%. Estos ensayos, además de caracterizar los atributos sensoriales, describen la intensidad de los mismos, mostrando una evaluación favorable de las propiedades sensoriales de los sabores cítricos (naranja y pomelo) en bebidas isotónicas. Por su parte, el panel describió mejores características referentes al color y al aroma en la bebida de naranja, por lo que se decidió incorporar este sabor en la formulación final del producto.

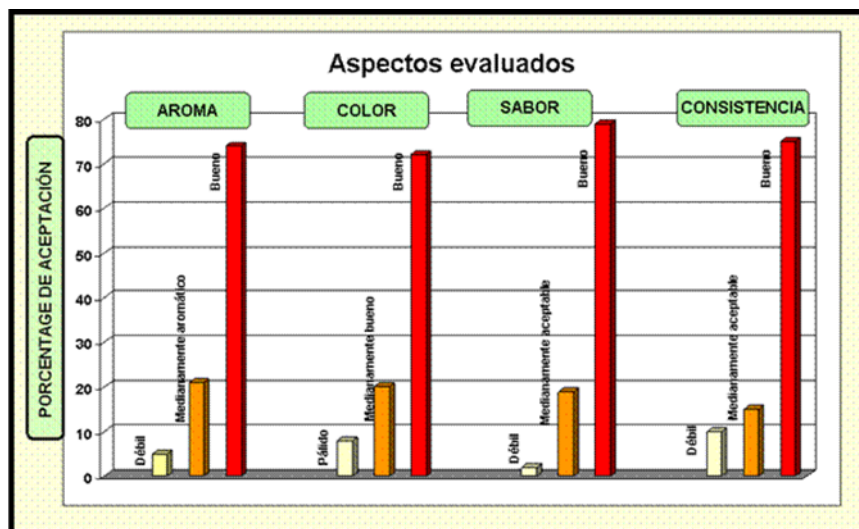


Gráfico 1: Evaluación sensorial descriptiva de bebida láctea sabor naranja formulada a partir de suero hidrolizado al 80%

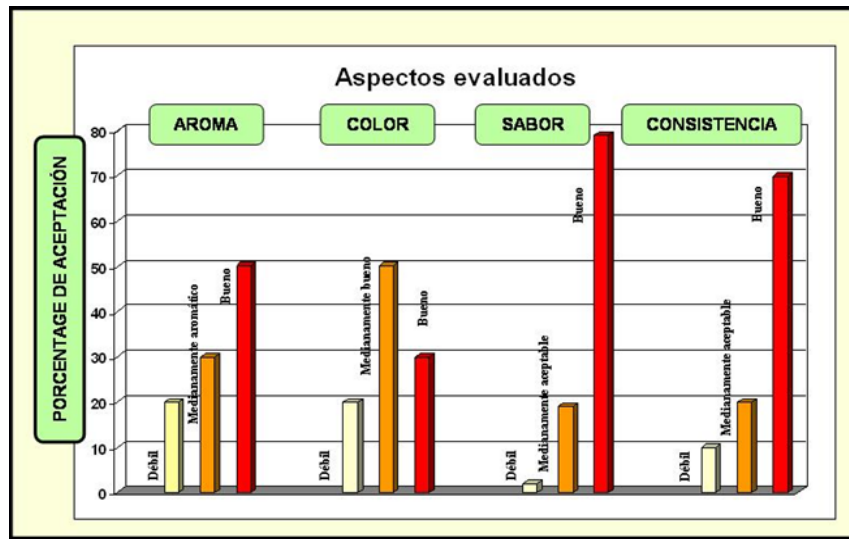


Gráfico 2: Evaluación sensorial descriptiva de bebida láctea sabor pomelo formulada a partir de suero hidrolizado al 80%

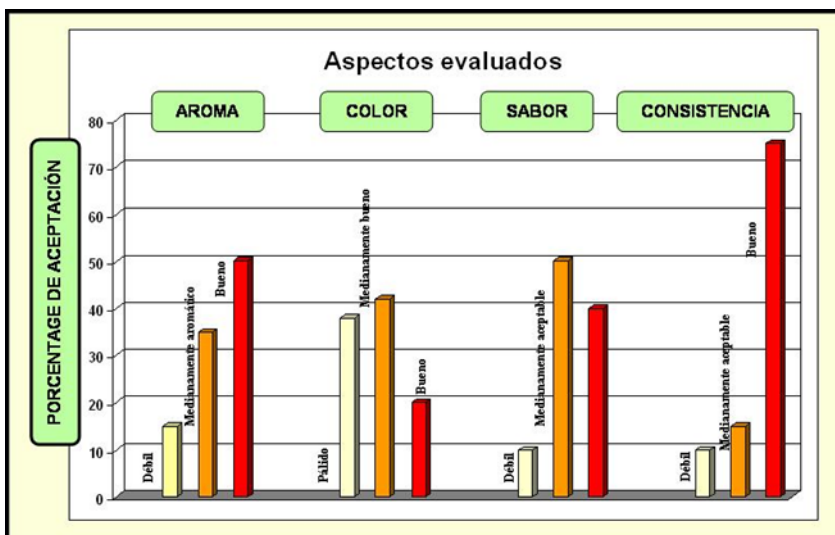


Gráfico 3: Evaluación sensorial descriptiva de bebida láctea sabor frutilla formulada a partir de suero hidrolizado al 80%

Formulación final y características del producto obtenido:

Los estudios realizados conducen a la formulación de una bebida láctea hidrolizada sabor naranja de pH ácido, que posee un proceso de elaboración sencillo. La composición nutricional cada 100 ml de producto incluye 13 g de hidratos de carbonos, 1 g de proteínas, 54 mg de sodio y 1.5 mg de otros minerales, representando un aporte de 56 kcal. Por su contenido de sales e hidratos de carbono se clasifica como bebida isotónica (Gráfico 4).

En este procedimiento se consideró el uso de un conservante, en particular si la cadena comercial no garantiza que la bebida se mantendrá siempre a temperatura no mayor de 4 °C. Teniendo en cuenta que la adición de ácido cítrico confiere un pH ácido y el sabor elegido es cítrico, el conservante adecuado es el benzoato de sodio (que realza su actividad a pH ácido) y la dosificación máxima es de

0.1 %. Es importante mencionar que la función de un conservador es conservar la buena calidad que ya existe en el producto, pero no la puede mejorar, por lo que es de gran importancia realizar el desarrollo bajo Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

INFOTMACIÓN NUTRICIONAL		
BEBIDA ISOTÓNICA EN BASE A SUERO LÁCTEO		
	Cantidad cada 100ml de producto	% Aporta a la VDR
Valor Energético (Kcal)	56	2.8
Hidratos de Carbono (g)	13	4.33
Proteínas (g)	1	1.33
Grasas Totales (g)	No significativas	-
Grasas saturadas (g)	No contiene	-
Grasas insaturadas (g)	No contiene	-
Sodio (mg)	54	2.25
Minerales (g)	0.5	-

(*) *Valores diarios de referencia de nutrientes, con base a una dieta de 2000 Kcal. Sus valores dietarios pueden ser mayores o menores según sus necesidades energéticas

Gráfico 4: Información Nutricional de la Bebida energizante.

Resultados microbiológicos:

Coniformes Totales: NMP < 3 / Coliformes Fecales: Ausencia / E. Coli: Ausencia / Recuento de Mesófilos Totales < 10 UFC/ ml / S. Aureus: Ausencia (para todas las muestras analizadas), estos valores se ajustan a los solicitados por el Código Alimentario Argentino para leches UAT.

Conclusiones

Las características y composición del efluente permiten diseñar un abanico de opciones que incluyen desde costosas tecnologías hasta soluciones integrales que posibilitan la obtención de productos lácteos con un bajo costo de producción. El criterio de selección para la elaboración de alguno de estos productos, debe adecuarse a las necesidades y posibilidades de los establecimientos queseros y considerar aspectos fundamentales, como el costo del proceso, el tiempo de producción y la posibilidad de ingresar el producto obtenido en el mercado.

En las formulaciones realizadas se obtuvo una bebida isotónica altamente aceptada por un panel sensorial, de buenas características organolépticas y amplias posibilidades de inserción en el mercado. El proceso de elaboración no presenta dificultades tecnológicas, requiere instalaciones de uso común en la industria láctea y permite que los productores de queso reduzcan el impacto ambiental que ocasiona la mala disposición del suero. Considerando que en el desarrollo industrial de los países de la región es fundamental implementar sistemas de gestión que conjuguen el aprovechamiento integral de los recursos y minimicen la contaminación del ambiente, se concluye que la elaboración de este producto posibilita llevar a cabo procesos más eficientes, tecnologías más limpias y mayor rentabilidad.

Referencias Bibliográficas

1. AOAC INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis International. 16th. ed. Gaithersburg: AOAC, 1995. Official Method 975.55.
2. ARGENTINA. MINISTERIO DE SALUD. Código alimentario argentino. Cap. VIII. Buenos Aires: ANMAT, 2006.

3. ATRA, R.; VATAI, G.; BEKASSY-MOLNAR, E.; BALINT, A. Investigation of ultra-and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. En: *Journal of Food Engineering*. 2005, 67(3):325-332.
4. BARNES, Lewis. *Manual en nutrición en pediatría*. 3a. ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1994.
5. Cuellas A., Oddone S., Mammarella E. and Rubiolo A. Hydrolysis of Lactose: Estimation of Kinetic Parameters Using Artificial Neural Networks. *Journal of Agricultural Science and Technology A & B.: TARBIAT MODARES UNIV*. 2013 vol.3 n°. p811 - 818. issn 1939-1250.
6. Cuellas A., Jaus R. and Wagner J. Optimization of Proteins Recovery Process from Cheese Whey. : *Journal of Agricultural Science and Technology.: David Publishing Company*. 2015 vol.4. issn 1939-1250.
7. CUELLAS, Anahí. Aprovechamiento industrial del suero de quesería. Obtención de una bebida energizante a partir del efluente. En: *Tecnología Láctea Latinoamericana*. 2008, (49):56-58.
8. CUELLAS, Anahí. Estudio de un reactor con enzimas inmovilizadas para el procesamiento de suero de quesería. Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral, 2005. (Tesis de Maestría).
9. GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; BECERRA, M.; CHÁFER, M.; ALBORS, A.; CAROT, J.M.; CHIRALT, A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. En: *Trends in Food Science & Technology*. 2002, 13(9-10):334-240.
10. INDA CUNNINGHAM, Arturo Enrique. Optimización del rendimiento y aprovechamiento en la industria de quesería. Cap. 4. México: OEA, 2000. pp. 63-93.
11. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microorganismos en los alimentos, 1: su significado y los métodos de enumeración*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000.
12. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microorganismos de los alimentos 1: técnicas de análisis microbiológico*. Zaragoza: Acribia, 1983.
13. MIRANDA, Oscar. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de calidad. En: *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*. 2007, 17(2):103108.
14. MONSALVE, Jorge; GONZÁLEZ, Danelis. Elaboración de un queso tipo Ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida. En: *Revista Científica*. 2005, XV(6):543-550.
15. SMITHERS, Geoffrey W. Whey and whey proteins. From 'gutterto-gold'. En: *International Dairy Journal*. 2008, 18(7):695-704.
16. ZADOW, J. Lactose: properties and uses. En: *Journal of Dairy Science*. 1984, 67(11):2655-2679.

4 Enzimas lipasas con potencialidades para la aplicación en la industria alimenticia: caso suero de leche (Lipase enzymes with potential for application in the food industry: whey case) Ernesto Rosero

Ernesto Alonso Rosero Delgado^{1, 2}, Julio Amilcar Pineda Insuasti²

¹Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador

²Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente, Ibarra, Ecuador

Email: ernestrosdel@gmail.com

Resumen

El lactosuero una fuente rica de componentes que pueden ser convertidos en productos de valor agregado está siendo desaprovechado. La lipasa es una enzima de gran importancia en la industria química como catalizador en la obtención de varios productos. En este trabajo se investigó la potencialidad de las lipasas para hidrolizar los triglicéridos contenidos en el lactosuero, y generar glicerol. *Aspergillus niger*, un prometedor productor de enzimas lipasas. Experimentos realizados en un biorreactor nos permitieron obtener un extracto enzimático que contenía la enzima lipasa con una concentración de 8,46UI/gss. La influencia de la enzima sobre los triglicéridos del lactosuero fue determinada, obteniendo que a 40°C con un 30% de enzima se alcanza una disminución de la materia grasa del lactosuero desde 4,52 hasta 0,92 g/L con una producción de glicerol 3,056 g/L.

Palabras clave: Lactosuero, *Aspergillus niger*, lipasas, triglicéridos, glicerol.

Abstract

Whey, a rich source of components that can be converted into value-added products, is being wasted. Lipase is an enzyme of great importance in the chemical industry as a catalyst in obtaining several products. In this work we investigated the potential of lipases to hydrolyze the triglycerides contained in the whey, and generate glycerol. *Aspergillus niger*, a promising producer of lipase enzymes. Experiments performed in a bioreactor allowed us to obtain an enzyme extract containing the enzyme lipase with a concentration of 8.46UI / gss. The influence of the enzyme on the triglycerides of the whey was determined, obtaining that at 40 ° C with a 30% enzyme a decrease in the fat content of the whey is reached from 4.52 to 0.92 g / L with a production of glycerol 3,056 g / L.

Keywords: Whey, *Aspergillus niger*, lipases, triglycerides, glycerol.

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Se encuentran entre las más notables de las biomoléculas conocidas debido a su extraordinaria especificidad y a su poder catalítico que son mucho mayores que las de los catalizadores hechos por el hombre (Lenhinger A., 1988).

Las enzimas que se utilizan en la industria alimentaria se pueden obtener a partir de animales, plantas o microorganismos. El 90% de las enzimas que se emplean tienen su origen en los microorganismos ya que son más económicas, y se puede obtener una gran variedad de las mismas. La inmensa mayoría de las enzimas microbianas se producen a partir de aproximadamente 25 organismos,

incluyendo una docena de hongos, pero se ha calculado que sólo aproximadamente el 2% de los microorganismos existentes en el mundo han sido estudiados como fuente de enzimas.

Las enzimas microbianas son más útiles que las derivadas de las plantas o animales por la gran variedad de actividad catalítica de que disponen, y porque usualmente pueden obtenerse en cantidades abundantes, baratas, de forma regular y de calidad uniforme. Además, las enzimas microbianas son generalmente más estables que sus homólogas de animales y vegetales, y su proceso de producción es más fácil y seguro (Cortés A., 2004).

Las lipasas o acilglicerol éster hidrolasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de grasas y aceites, dando lugar a la formación de glicerol y ácidos grasos (Malcata F., 1996). En los últimos años se ha producido un aumento vertiginoso en la utilización industrial de enzimas, dentro de las que se destacan las lipasas. De forma general la aplicación industrial de esta enzima de origen microbiológico puede ser *in situ* o *ex situ*. La primera variante implica el cultivo del microorganismo deseado en un medio que tenga el sustrato adecuado, siendo más utilizada esta técnica en la industria alimenticia y textil y en el caso del proceso *ex situ* se aplican lipasas ya purificadas, lo cual es muy utilizado para sintetizar productos en procesos de química fina (Coca J., 2002). Las lipasas presentan múltiples aplicaciones, debido a que los procedimientos químicos presentan muchas limitaciones e inconvenientes y la aplicación de tecnologías que utilizan enzimas aparece como muy prometedora para el desarrollo de nuevos tipos de grasas y aceites. Las lipasas son enzimas muy peculiares y debido a sus características presentan numerosas aplicaciones en diversas industrias, dentro de las que se encuentran la industria detergiva junto a proteasas, amilasas y celulasas para catalizar la ruptura de enlaces químicos tras la adición de agua; en la industria textil junto a las proteasas para el procesamiento del cuero; en la industria agroquímica para la elaboración de pesticidas; en los biosensores para la determinación de lípidos para análisis clínicos (Pandey A. et al., 1999). También tienen aplicaciones biomédicas por sus excelentes capacidades para catalizar reacciones regionales específicas en una gran variedad de solventes orgánicos con diferentes sustratos (Coca J., 2002); en la protección del medio ambiente pues esta enzima se puede emplear para sanear los desechos contaminados con aceites en restaurantes o plantas procesadoras de grasas y en la industria de cosméticos y perfumes pues presenta aplicación en la producción de surfactantes y aromas (Pandey A. et al., 1999).

El sustrato sobre el cual actúan las lipasas adicionadas a la leche, queso, o lactosuero es la grasa láctea (Siezen R. et al., 1994). El lactosuero, un subproducto de los procesos industriales de la leche, ofrece una buena perspectiva frente a su uso como materia prima para la obtención de biopolímeros, debido a su bajo costo de adquisición y a la gran cantidad que se genera como residuo de la industria láctea del país. Aproximadamente 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es descartada en forma de lactosuero, el cual retiene cerca de un 55%p/v del total de componentes de la leche, como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (F. Carvalho, A. R. Prazeres, y J. Rivas 2013). El lactosuero residual posee una alta carga contaminante, sin embargo, presenta un buen potencial para convertirse en otros productos de valor agregado, aunque desafortunadamente no es reutilizado de manera eficiente.

El glicerol es un subproducto resultante de la fabricación de biodiesel, que se produce por una transesterificación del aceite extraído y que se encuentra en una relación másica 1kg glicerol/10 kg Biodiesel (J. A. Posada and C. A. Cardona 2012). Debido al aumento en la producción de biodiesel, la cantidad de glicerol residual también se ha aumentado provocando una disminución de su precio en el mercado, afectando la rentabilidad de las empresas productoras de biodiesel. A su vez, los bajos precios del glicerol han generado un problema medio ambiental, debido a que las industrias cosmética y farmacéutica no usan todo el glicerol producido y entonces se encuentran grandes cantidades remanentes de subproducto cuya disposición final constituye un problema para las empresas productoras (R. E. da Costa and E. E. Silva-Lora 2000). Con los datos anteriores, se concluye que es factible proponer nuevos métodos de utilización de estos residuos de bajo costo y de grandes

posibilidades de aplicación en el sector industrial, donde se podría reducir de manera eficiente la contaminación producida y minimizar los costos relacionados con la adquisición y transporte de la materia prima.

Materiales y Métodos

Adaptación de la cepa de trabajo

El microorganismo seleccionado para la obtención de la enzima lipasa fue *Aspergillus niger*, el cual fue obtenido a partir de frutos ácidos contaminados, de los cuales se replicaron por técnica de repique, en placas que contenían medio papa dextrosa agar (PDA) y agar sabourad dextrosa, obteniendo cultivos presuntivos de hongos de esta especie.

Obtención del extracto enzimático

Para el proceso de fermentación, se realizó el diseño y construcción de un biorreactor de laboratorio para fermentación líquida, basándose en relaciones de diseño establecidas por Doran, P (1995), El microorganismo fue inoculado en el biorreactor el cual contenía un medio de cultivo modificado; rico en lípidos, según lo establecido por Coca, J., y col. (2001). La composición del medio se detalla en la Tabla 1

Tabla 1. Composición del medio de cultivo rico en lípidos

COMPONENTE	CANTIDAD (g)	PORCENTAJE (%)
NaH ₂ PO ₂	12	21.60
KH ₂ PO ₄	2	3.60
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.3	0.54
CaCl ₂	0.25	0.45
(NH ₄) ₂ SO ₄	1	1.80
Glucosa	20	36
Aceite de Oliva	20	36

La lipasa es un enzima extracelular, que se obtiene por procesos sucesivos de purificación a partir de un extracto obtenido de un proceso fermentativo, la obtención de este extracto se la realizó con un proceso de filtración al vacío y una posterior centrifugación para eliminar las células del microorganismo (Lozano, M.P. 2011).

Aplicación del extracto enzimático

Se realizó una cinética para observar la influencia que tiene sobre la formación de ácidos grasos, el tiempo de hidrólisis. Para ello se desarrollaron hidrólisis a 20, 40, 60, 80 y 100 minutos. En cada caso se preparaban, una muestra de lactosuero sin la acción de la enzima y otra con una determinada concentración de enzima. La temperatura a la que se llevó a cabo este estudio fue 50 °C y la concentración de enzima fue de 30 %.

Métodos analíticos empleados

Determinación de la actividad enzimática

La actividad hidrolítica de los extractos enzimáticos se determinó espectrofotométricamente (espectrofotómetro WPA, modelo U1100) mediante la hidrólisis del propanoato de p-nitrofenilo (pNPP). El método consiste en medir el incremento de absorbancia a 348 nm debido a la formación de p-nitrofenol como resultado de la hidrólisis de 0,4mmol/L de pNPP en 25mmol/L de tampón de fosfato de sodio a pH=7 y 30°C (Hasan, F., Shah, A. A., y Hameed, A. 2009).

Determinación de las cantidades de ácidos grasos libres totales

Inicialmente la detección cualitativa de glicerol, se realizó mediante la metodología seguida por Ben-Amotz, A., Sussman, I., & Avron, M. (1982), el ácido sulfúrico oxida el glicerol presente en la muestra,

y utilizando carbonato férrico como indicador, la reacción inicia con un color naranja fuerte y finaliza con un verde intenso por la presencia del glicerol.

La actividad hidrolítica de la lipasa se determinó por titulación de los ácidos grasos liberados en la hidrólisis de los sustratos nativos de la enzima (triacilglicéridos). El procedimiento se realizó acorde con la metodología usada por Quispe, C. A., Coronado, C. J., y Carvalho Jr, J. A. (2013); con algunas modificaciones para la preparación del sustrato se mezclaron 40,8 mL de buffer fosfato pH 7, 100 mM, 30 mL de la muestra, 30 mL de agua destilada. Para la mezcla de reacción se utilizan 9 mL de la emulsión más 1 mL de la solución enzimática o 200 mg del soporte con la enzima inmovilizada, se dejaron reaccionar por 5 minutos a 37 °C, la reacción se detuvo añadiendo 10 mL de etanol al 95%. Los ácidos grasos liberados se titularon con KOH 0,025M utilizando como indicador fenolftaleína. Para todas las pruebas se hizo un blanco de reactivos. Para determinar la actividad relativa de las lipasas se tomó como referencia los ácidos grasos liberados, los cuales se calcularon basadas en los equivalentes de KOH usados para alcanzar el punto final de la titulación según la siguiente ecuación:

$$\frac{\mu\text{mol de ácidos grasos}}{\text{mL de la muestra} * \text{min}} = \frac{[(A - B) * 1000 * N]}{V_{rxn} * t}$$

Dónde:

A es el volumen de KOH

B es volumen de KOH gastado por blanco

N es la normalidad de KOH

t es tiempo de reacción

V_{rxn} es volumen de reacción

Resultados y Discusión

Diseño del biorreactor

El volumen de trabajo seleccionado para la construcción del biorreactor experimental, fue de 1200cm³ es decir se trabajó en una escala piloto, el material usado para la construcción fue, acero inoxidable tipo alimentario (AISI304), la cepa usada para el proceso fue obtenida en procesos previamente detallados (*A. niger*).

Los cálculos de diseño se basaron en rendimientos ($Y_{X/S}$, Y_{X/O_2}), e índices de consumo (RO_2), reportados por investigaciones previas realizadas para este microorganismo. Las características del diseño se detallan en la tabla 2

Tabla 2. Características del biorreactor de laboratorio

Característica	Valor	Unidades
Capacidad (Volumen)	1200	cm ³
Diámetro	10.8	cm
Altura	21.4	cm
Velocidad	150	rpm
Tipo Impelente	Turbina Rushton	-
Voltaje	110	V
Frecuencia	60	Hz

Aplicación del extracto enzimático

Análisis cualitativo



Figura 1. Determinación cualitativa de presencia de glicerol

En la determinación cualitativa se observó un cambio en la coloración de naranja a verde intenso pasados los 10 minutos, en la muestra que contenía el extracto enzimático sobre el suero de leche (B), como se determina en la figura 1. Por el contrario el blanco que contenía glicerol puro donde se puede ver el color azul verdoso intenso (A), la diferencia de color nos revela la presencia de glicerol, el cual es un producto de la reacción de la enzima lipasa presente en el extracto obtenido de la fermentación sobre los triglicéridos presentes en el lactosuero.

El análisis cuantitativo se observó que a las 24 horas de hidrólisis se obtienen 0,212 g/L, a las 48 horas se evidenció un aumento hasta 0,424 g/L, estabilizándose a las 144 horas con un valor de 3,056 g/L. En general, se observa un aumento de concentración de ácidos grasos conforme va disminuyendo la concentración de triglicéridos en el lactosuero, la cual inicio con una concentración de 4,52 g/L y finalizó con 1,92 g/L a las 144 horas, es decir se reduce el 42,54% del contenido de triglicéridos (Fig. 2).

Estos resultados indican, tal como se comprobó en el análisis cualitativo, la transformación de los lípidos en ácidos grasos mediante la hidrólisis enzimática ocasionada por la acción de las enzimas lipasas presentes en el extracto enzimático dosificado al lactosuero, esto revela que las lipasas obtenidas del microorganismo *Aspergillus niger* son una alternativa viable para la obtención de glicerol a partir de los triglicéridos del lactosuero.

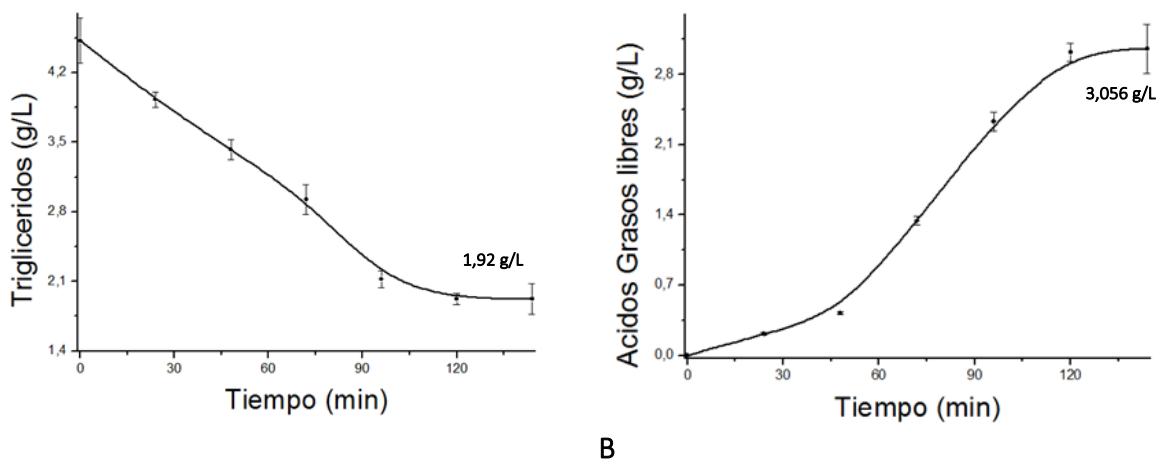


Figura 2. A) Disminución de los triglicéridos contenidos en el lactosuero, B) producción de ácidos grasos debido a la hidrólisis enzimática

Diversos autores atribuyen gran importancia a la liberación de ácidos grasos libres de los triacilglicerolos, ya que los productos generados a partir de los mismos constituyen elementos importantes a nivel industrial.

Conclusiones

Debido a las grandes cantidades de queso que son producidas a nivel mundial, el suero de leche ha generado un problema de contaminación ambiental.

Estudios en animales y humanos sugieren que uno de los principales productos obtenidos a partir del lactosuero son los concentrados de proteína. Sin embargo, las concentraciones de proteína son bajas, y podrían incrementarse separando los demás componentes como la grasa y otros. El aprovechamiento de los triglicéridos del lactosuero puede traer réditos económicos debido a que el glicerol que se produce de la hidrólisis de estos lípidos puede utilizarse en la elaboración de productos secundarios o como materia prima de combustibles.

Referencias Bibliográficas

1. Lehninger, A. L. (1988). Proteins: three dimensional confirmation. *Biochemistry*, 126-135.
2. Cortés, A. (2004). Aplicación de enzimas en la producción industrial. *Tecnología, Mundo alimentario*, (Sept–Oct 2004), 20.
3. Coca J, Hernández O., Berrio R., Martínez S., Días E., Dustet J. (2001). Producción y caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A Fumigatus*. *Biotecnología Aplicada* 18, 4, 216-220.
4. Pandey A., Benjamin S., Socco C., Krieger N. (1999). The realm of microbial lipases in biotechnology. *Journal Biotechnology and Applied Biochemistry* 29, 119-131.
5. Siezen R., van den Berg G. (1994). Lipases and their action on milkfat. *Bulletin of the International Dairy Federation* 294.
6. F. Carvalho, A. R. Prazeres, and J. Rivas (2013), —Cheese whey wastewater: characterization and treatment.,|| *Sci. Total Environ.*, vol. 445–446, pp. 385–96, Feb.
7. J. A. Posada and C. A. Cardona (2012), —Propionic acid production from raw glicerol using commercial and engineered strains,|| *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 51, pp. 2354–2361.
8. R. E. da Costa and E. E. Silva-Lora (2000), —The energy balance in the production of palm oil biodiesel—Two case studies: Brazil and Colombia.
9. Coca, J., Hernández, O., Berrio, R., Martínez, S., Díaz, E., & Dustet, J. C. (2001). Producción y caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. *Biotecnología aplicada*, 18, 216-220.
10. Lozano Torres, M. P. (2011). Aislamiento y purificación del hongo *aspergillus niger* para la obtención de enzimas clarificadoras aplicables en biotecnología de jugos (Bachelor's thesis, Universidad del Azuay).
11. Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: a comprehensive review. *Biotechnology advances*, 27(6), 782-798.
12. Ben-Amotz, A., Sussman, I., & Avron, M. (1982). Glycerol production by *Dunaliella*. In *New Trends in Research and Utilization of Solar Energy through Biological Systems* (pp. 55-58). Birkhäuser, Basel.
13. Quispe, C. A., Coronado, C. J., & Carvalho Jr, J. A. (2013). Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and sustainable energy reviews*, 27, 475-493.

5 Acumulación y metabolismo de selenio por las células de levadura (Selenium accumulation and metabolism by yeast cells) Miguel Otero

Miguel A. Otero-Rambla y Amaury Alvarez-Delgado

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Vía Blanca 804 y Carretera Central La Habana 11000 Cuba

Autor correspondiente: Miguel A. Otero-Rambla Email: maorambla@yahoo.es

Resumen

El presente artículo examina el proceso de bioacumulación de selenio y su metabolismo en las células de levadura. Los microorganismos en general pueden incorporar permanentemente elementos presentes en su entorno aun cuando no sean estos necesarios para su metabolismo. Las células de levadura en particular pueden enlazar Se en su estructura celular tanto en forma inorgánica como orgánica.

La bioacumulación ocurre en dos etapas: el enlace intracelular del selenio y su posterior transporte al interior de la célula. Durante este proceso el selenio sufre diferentes procesos de oxidación, reducción, metilación y síntesis de seleno proteínas que permiten la supervivencia de la célula en un entorno agresivo como es la acumulación de Se en el medio. Este mecanismo puede ayudar en reducir los efectos del estrés oxidativo en las enfermedades neuro degenerativas como las enfermedad de Huntington o mal de San Vito.

Palabras clave: antioxidante inorgánico, selenoproteínas, enfermedad de Huntington, metabolismo microbiano, absorción de metales

Abstract

Present paper examines the process for bioaccumulation of selenium and its metabolism in yeast cells. Microorganisms in general can permanently bind different elements present in their environment even when they were not needed for their metabolism. Yeast cells in particular can build up Se in their structure both inorganic and organic species.

Bioaccumulation occurs in two steps: intracellular binding of selenium and its subsequent transport to cytoplasm. During the process selenium undergoes different oxidation, reduction, methylation and synthesis of selenium proteins which allow the survival of cells in an aggressive environment as the Se accumulation produces. This mechanism can help to reduce the effects of oxidative stress in neuro degenerative diseases as Huntington or San Vito's dance.

Key words: inorganic antioxidant, seleno proteins, Huntington's disease, microbial metabolism, metal absorption

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

La enfermedad de Huntington (HD) es un raro desorden neurovegetativo del sistema nervioso central caracterizado por movimientos espasmódicos, disturbios psiquiátricos y de conducta y finalmente demencia, el conocido *mal de San Vito* (Bruyn GW, 1968). Su prevalencia en la población caucásica se estima entre 1/10,000 y 1/20,000 (Bates *et al*, 2002, Walker 2007, Warby *et al* 2011) y la edad

promedio para su debut oscila entre 30 y 50 años. En algunos casos los síntomas empiezan desde los 20 años con disturbios de comportamiento y dificultades de aprendizaje (Huntington Juvenil; JHD). El síntoma clásico es que los movimientos involuntarios se difunden a todos los músculos y así, todos los procesos sicomotores se retardan severamente, manifestándose síntomas siquiátricos y declinación cognitiva.

HD es una enfermedad autosómica hereditaria causada por la repetición elongada de la secuencia CAG (hasta 36 veces o más) en la rama corta del cromosoma 4p16.3 en el gen correspondiente (gen Huntingtiniano) (Anon, 1993). Mientras mayor sea la repetición de la secuencia, más temprana la aparición de la enfermedad. Para los más jóvenes, la repetición con frecuencia excede las 55 veces (Trottier *et al*, 1994). La diagnosis se basa en los síntomas clínicos en individuos con progenitors con HD probada y confirmada por análisis de DNA. No existe cura para la enfermedad, solo paliativos para mejorar la calidad de vida.

A pesar de esta realidad, sin embargo, la extensión y severidad del daño oxidativo en HD son hechos bien reconocidos pero tal vez no apreciados en toda su magnitud (Johri y Beal, 2012). El daño oxidativo ocurre en los lípidos, proteínas y DNA y se ha sugerido que este último puede contribuir a la expansión del CAG durante la reparación del DNA (Kovtun *et al*, 2007). Los antioxidants son efectivos en la reducción de la progresión de la enfermedad en modelos de ratones transgénicos y se mostraron promisorios en ensayos clínicos en humanos. Los síntomas de la enfermedad son: movimientos espasmódicos o de contorsión involuntarios (corea), problemas musculares, como rigidez o contracturas musculares (distonía), movimientos oculares lentos o anormales, marcha, postura y equilibrio afectados y dificultad en la producción física del habla o para tragar.

El Selenio forma parte de un grupo de elementos traza necesarios para el adecuado funcionamiento de un organismo. Es una parte importante de las selenoproteínas y varias enzimas que funcionan como antioxidantes entre las que se encuentran la glutation peroxidasa (GPx), thioredoxin reductasa (TRxR), y iodo thyronina deiodinasa (DIO), las que protegen la célula de los efectos dañinos de los radicales libres que se generan durante los procesos de oxidación (Drutel *et al* 2013).

El Se inorgánico en forma de selenito es asimilado de manera limitada por el organismo. La incorporación del Se en macromoléculas como proteínas o aminoácidos específicos, existentes en pequeñas cantidades en nuestro organismo, presentan mayores oportunidades de neutralizar los radicales libres en los procesos oxidativos naturales (Lin, MT & Beal 2006).

Las levaduras son microorganismos eucarióticos que poseen un veloz metabolismo celular y por tanto interactúan intensamente con el entorno extracelular. Una característica intrínseca a las levaduras producidas en un medio rico en nutrientes, es su corto tiempo de generación – de 1.5 a 2.0 horas- lo que se traduce en la duplicación de la concentración celular muy rápidamente.

Muchos elementos traza, entre ellos el Se son acumulados por las células de levaduras a partir del medio (Kieliszek y Błażej 2013; Schrauzer 2006). Las levaduras son ampliamente utilizadas tanto en la producción de alimentos como de forrajes y también en las industrias biotecnológicas y farmacéuticas. Vale la pena mencionar que el mecanismo de acumulación de Se y su conversión en estructuras intracelulares no está totalmente dilucidado.

Mecanismos de enlace externo de selenio

El enlace del Se extracelular se basa en la absorción química que involucra la formación de enlaces iónicos o el acomplejamiento de los iones de Se por algunos biopolímeros de la pared celular como los grupos activos de proteínas, fosfolípidos y/o polisacáridos.

Hay que tener en cuenta que la pared celular de las levaduras representa entre 20 y 30% del su peso seco y está compuesta mayormente por polisacáridos (aprox 85 %) y proteínas (15 %) (Klis *et al* 2006, Olas *et al* 2010, Levin & Moran 2011).

Los procesos fisico-químicos juegan un papel fundamental en el enlace extracelular del Se. La bioabsorción del selenio se debe a la presencia de grupos funcionales que exhiben carga negativa en

la superficie de la pared celular como los grupos fosfodiéster (Klis *et al* 2002) entre otros. El alcance de esta absorción depende de la hidrofobicidad de las paredes celulares de la levadura que a su vez depende de la proporción entre sus componentes (Kordialik-Bogacka 2011).

La Fig 1 muestra el modo de transporte de Se a las células de levadura

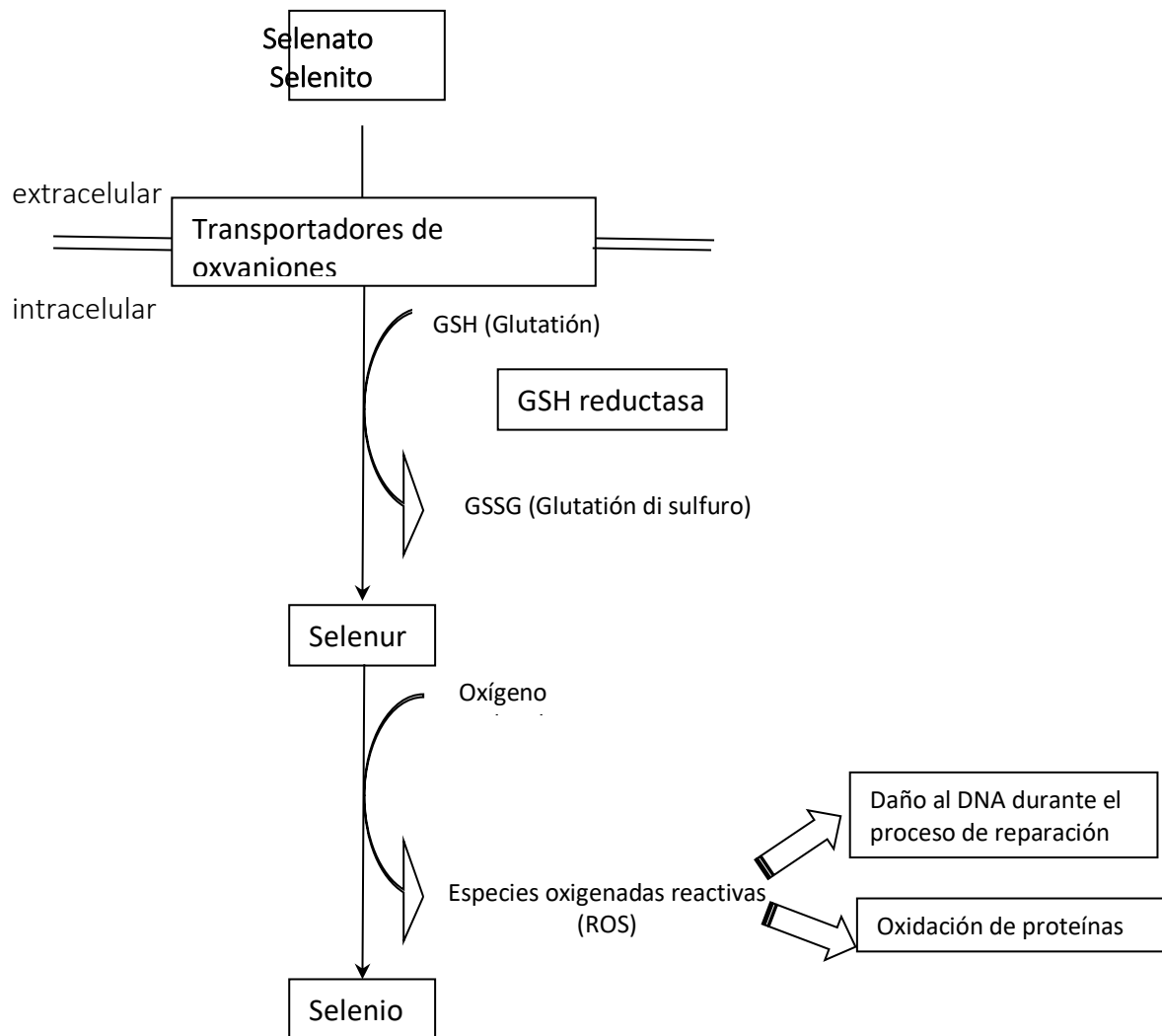


Fig 1 Transporte de selenio en forma de oxianión al interior celular (Rosen & Liu 2015)

Acumulación de Se intracelular

El proceso de acumulación de Se intracelularmente se produce por transporte activo. Para superar la barrera que supone la impermeabilidad de la membrana se requiere un mecanismo específico (Rosen & Liu 2009). La mayoría de los estudios se han realizado con levaduras y bacterias encontrándose que en células de levaduras cultivadas en glucosa y fructosa, alcanzaron niveles de Se de 14 y 11mg/g, respectivamente. Estos resultados sugieren que un medio rico en sacarosa puede ser apropiado para la acumulación de Se a partir de que la presencia de invertasa en las levaduras hidroliza este disacárido en glucosa y fructosa a partes iguales. Las melazas de caña por su alto contenido en sacarosa son un candidato preferente. Se ha informado igualmente y resulta por demás un dato de suma importancia que la presencia de iones sulfato y sulfito en el medio de cultivo no afecta la bioabsorción de Se por *S. cerevisiae*. Observaciones publicadas por otros autores (Golubev & Golubev 2002) confirman la tolerancia de las levaduras a la presencia de Se en el medio depende de la composición de este y la presencia de aminoácidos sulfurados. Según Demirci & Pometto (1999), una relación Se/S estimada de 4:1 en el medio es óptima para una bioacumulación eficiente de Se en forma orgánica.

Resultados informados por Marinescu *et al* (2011) demostraron que el proceso de bioacumulación de Se tiene lugar en la fase logarítmica de crecimiento. Así, la levadura *Saccharomyces uvarum*, la utilizada en la preparación de cervezas, cuando se cultivó en un medio de melazas suplementado con selenito de sodio en concentraciones desde 30 a 180 mg/L, acumuló cantidades importantes de Se que variaron entre 0.62 y 2.22 mg/g.. Ponce de León *et al* (2002) realizaron estudios en los que variaron los métodos de dosificación de Se en *S. cerevisiae*. Los estudios demostraron que la mejor manera de obtener levaduras ricas en Se en una de las formas más favorables para su absorción (L-selenomethionina) fue añadir dosis bajas de selenito sódico (de 10 a 50 mg/L) en la fase logarítmica temprana alcanzándose alrededor de 2.4 mg/L en la biomasa celular. La temperatura y el pH juegan también un rol importante en la bioabsorción de Se en *S. cerevisiae* (27-30°C, pH = 5.8-6) (Yin *et al* 2010). La Fig 2 muestra la ruta metabólica de Se en las células.

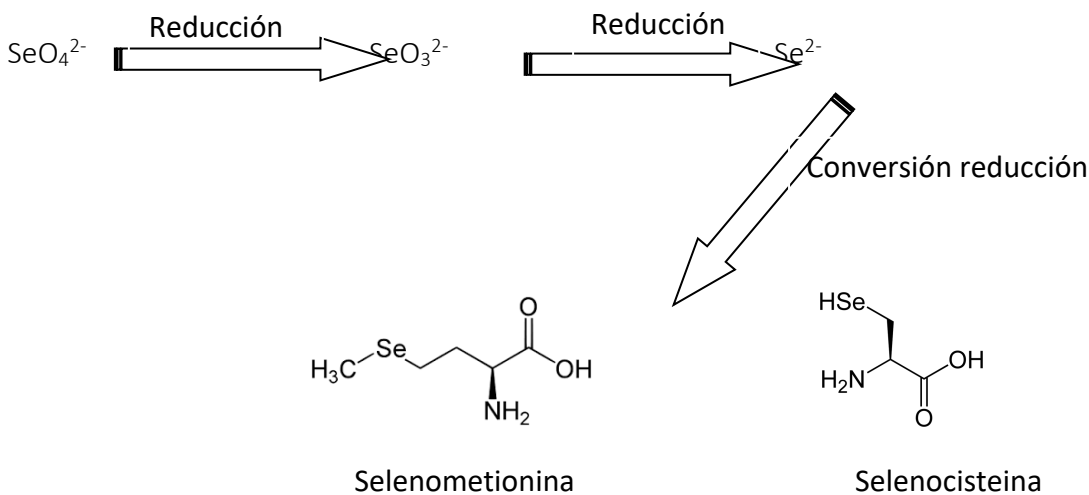


Fig 2 Reducción de selenio inorgánico en la célula

Toxicidad del selenio

El selenio es tóxico cuando se ingiere en concentraciones superiores a 300 $\mu\text{g}/\text{día}$ (Fairweather-Tait *et al* 2011). Sus efectos tóxicos se conocen desde hace mucho tiempo y depende de factores como la forma química, la concentración y las posibles transformaciones que puedan sufrir en su interacción con el medio.

Las formas orgánicas de los elementos suelen considerarse más tóxicas que las especies inorgánicas, por su naturaleza lipofílica, y así poseer mayor facilidad para difundir rápidamente a través de las membranas celulares. Sin embargo, muchas especies orgánicas de selenio son esenciales y forman parte de las proteínas (SeMet, SMC y SeCys2), por lo que su toxicidad potencial es nula. Dentro de las formas inorgánicas, el selenio elemental parece ser el menos tóxico por ser el más insoluble y por tanto difícilmente asimilable por los organismos. Las especies selenito y seleniato presentan toxicidad semejante, otorgándoseles propiedades mutagénicas.

El selenio puede ser transportado en la cadena alimenticia hacia niveles superiores. Por ejemplo en los sistemas acuáticos, la biomagnificación de selenio oscila entre 2 y 6 órdenes de magnitud desde el productor primario (fitoplancton, algas) hasta llegar a los animales y vertebrados.

En el hombre se desconocen los niveles exactos para producir la intoxicación crónica, pero se ha observado que cantidades del orden de 2-8 mg/ kg son capaces de producir graves lesiones. Se han registrado varios casos de envenenamiento por selenio con un consumo dietético de 5 a 27 mg/ kg, o por exposición industrial a seleniuros, dióxidos de selenio y oxiclورو de selenio. Los síntomas de selenosis por inhalación son mareos e irritación de las membranas mucosas.

Cuando la exposición es elevada produce acumulación de líquido en los pulmones, bronquitis, neumonía, fiebre, dolor de garganta, conjuntivitis, vómitos, dolores abdominales, diarrea y expansión del hígado. Cuando es ingerido puede producir pelo quebradizo y uñas deformadas, sarpullidos, calor, hinchamiento de la piel, dolores agudos.

El hecho de que el selenio pueda comportarse como elemento tóxico o esencial en la bioquímica de los seres vivos, dependiendo de su concentración y sobre todo de su forma química, hace que sea muy importante su estudio y control, con el fin de evitar desórdenes biológicos procedentes de la administración de un exceso o deficiencia en este elemento. En primer lugar, debido a que el selenio se presenta en muestras biológicas y medioambientales a niveles traza, es necesario el empleo de técnicas de análisis de elevada sensibilidad.

Por ello se ha estudiado su determinación por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS), a través de diferentes sistemas de introducción de muestra: nebulización neumática convencional (CN) y generación de hidruros (HG), en ambos casos, se ha estudiado la introducción de muestra en continuo y por inyección en flujo.

Métodos de propagación de microorganismos

La producción de selenio levaduras puede ser llevada a cabo por medio de diferentes arreglos tecnológicos y de operación de los biorreactores.

Batch

La fermentación por lotes (Batch) es ampliamente usada en las industrias biológicas incluyendo la propagación microbiana, metabolismo celular y la producción de numerosos productos. En general puede usarse para construir los modelos cinéticos de diferentes microorganismos y estudiar las condiciones de producción óptimas y de control de proceso (Fengxue & Min 2019). Si el producto en estudio está directamente asociado al crecimiento como es el caso de la producción de biomasa microbiana, proteínas unicelulares etc, se debe elongar la fase de crecimiento logarítmica lo más posible para incrementar la concentración del producto de interés, de tratarse de un metabolito secundario lo contrario es lo aconsejable.

En el caso de la acumulación de Se en las células, no se trata de ninguno de éstos y el modelo resulta útil para el estudio de la cinética de incorporación del Se y el análisis de la influencia de las diferentes condiciones de fermentación sobre la inhibición del crecimiento entre otros aspectos. Para su empleo como tecnología de producción, no parece aconsejable especialmente cuando de un producto tóxico se trata pues el modelo se basa en preparación del medio de cultivo con la totalidad de los nutrientes necesarios para el desarrollo del proceso completo: propagación del cultivo y acumulación del producto de interés.

La Fig 3 muestra el modelo de crecimiento de un proceso batch típico

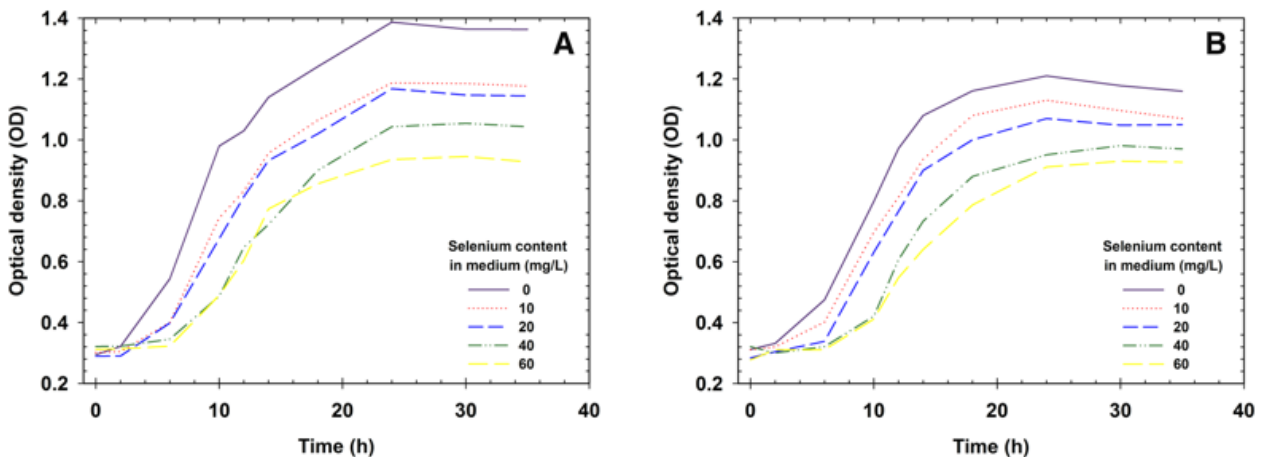


Fig 3 Cinética típica del modelo de fermentación por lotes. A *Candida utilis*; B *Saccharomyces cerevisiae* (Kieliszek *et al* 2019)

Fed-Batch

El modo de propagación fed-batch es operado generalmente con la adición de nutrientes en dosis pequeñas lo que provoca un incremento constante en el volumen de cultivo. El cultivo por lote conserva un volumen constante y se ha empleado para simular el crecimiento de microorganismos. En este último, la totalidad de los nutrientes han de ser cargados en el medio de cultivo desde el inicio y así la posible inhibición por sustrato está siempre latente.

En el caso de la incorporación de Se en levaduras, el proceso de propagación fed-batch parece ser el más apropiado (Nisamedtinov 2007) pues permite la dosificación controlada del Se inorgánico por debajo del umbral de toxicidad para las células. Este modelo permite el control de todas las variables del proceso, a saber: tasa de crecimiento (μ) y adición de medio, pH, temperatura y control Redox, dentro de los límites permisibles sin comprometer la propagación celular (Yoshinaga *et al* 2018, Wang *et al* 2018). La Fig 4 muestra una comparación típica entre los sistemas batch y batch incrementado

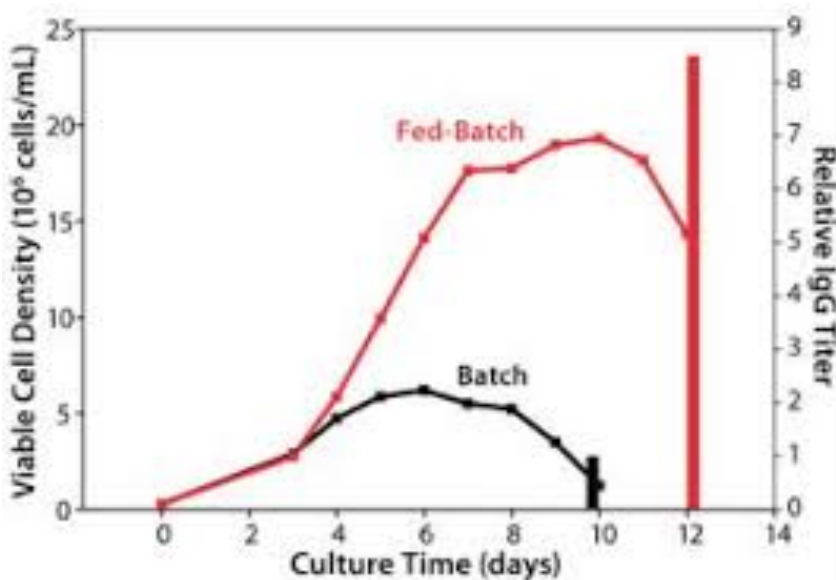


Fig 4 Sistemas batch y batch incrementado de fermentación

Cultivo continuo

Tanto el cultivo *batch* como el *fed batch* son cultivos cerrados; el cultivo abierto por antonomasia es el **quimiostato**. Este es un cultivo en el que:

- el medio fresco es introducido continuamente a un flujo constante

- el volumen de medio se mantiene constante a través de la extracción del medio fermentado al mismo flujo
- en este el suministro de un nutriente simple controla la tasa de crecimiento

Los cultivos en estado estacionario permiten un control preciso del crecimiento y el entorno celular. Estos cultivos pueden extenderse por semanas e incluso meses dentro de estos entornos controlados lo que lo hacen un sistema ideal para la obtención de numerosos productos de interés industrial.

En este sistema, una vez alcanzado por cultivo batch una concentración de células elevada, se comienza a alimentar el sistema con los nutrientes necesarios para mantener constante el cultivo y la composición del producto. La ventaja de este sistema es la alta productividad horaria que presenta, sin embargo cuando se trata de la incorporación de un elemento ajeno al metabolismo celular como es el caso del selenio, no parece ser el sistema idóneo. La inhibición del crecimiento por la alimentación de compuestos selenados en el medio tiene un impacto negativo sobre la propagación celular al ser éste un elemento tóxico. Como por definición el cultivo continuo es un proceso abierto en el que se presupone una tasa de crecimiento (μ) determinada para un flujo de alimentación de nutrientes dado, se corre el peligro que la concentración celular decaiga continuamente en el tiempo y el sistema entre en el proceso de *wash out* (concentración celular = 0).

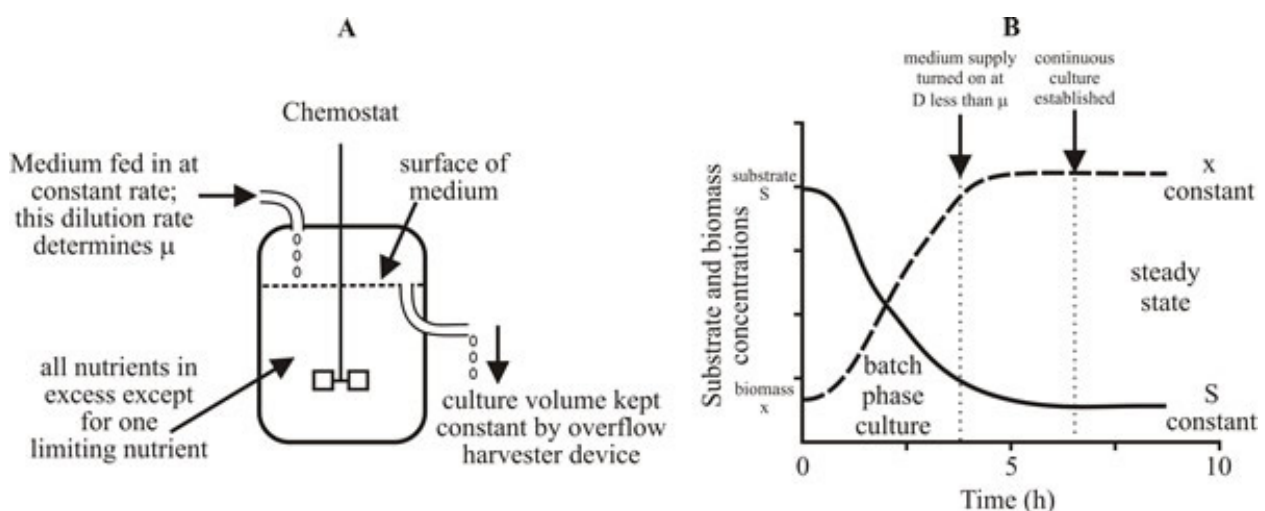


Fig 5 Cultivo Continuo en Quimiostato (Moore D, Robson DG, Trinci AP. 21st Century Guidebook to Fungi, 2nd Ed. 2018)

De acuerdo con las características de los sistemas de fermentación disponibles, el batch incrementado (fed batch) parece ser el modelo idóneo para la obtención de levaduras enriquecidas en Se.

Determinación de selenio

Se han empleado diversas técnicas de detección para la determinación del contenido total de selenio. Entre ellas se pueden citar:

- HGAAS (Espectroscopía de Absorción Atómica por Generación de Hidruros) este es un tipo de espectroscopía de fluorescencia atómica para metales como As, Sb y Se en el que estos elementos se vaporizan en hidruros volátiles. Este método ha sido empleado para la determinación de Se en fórmulas infantiles y leche con buenos resultados (Pistón *et al* 2009)
- El ICP-MS (Espectrometría de Masa acoplada Inductivamente) es un tipo de espectrometría de masa capaz de detectar metales y varios no metales en concentraciones tan bajas como $1/10^{15}$ (parte por cuadrillón, ppq). Se alcanza esta sensibilidad ionizando la muestra por medio de plasma acoplado inductivamente y usando después un espectrómetro de masas para separar los

iones y cuantificarlos. Es más rápida, sensible y precisa que la AAS clásica pero introduce muchas especies que interfieren como el argón del plasma, componentes gaseosos del aire etc. Aun así, es la técnica de detección más empleada para el análisis de elementos inorgánicos en alimentos por su elevada sensibilidad y selectividad (Amman AA 2007). La producción de levadura enriquecida en selenio puede llevarse a cabo a partir de numerosos sustratos azucarados entre ellos el lactosuero producido durante la fabricación de quesos por lo que este sustrato puede ser un elemento de importancia en la lucha contra esta enfermedad.

Conclusiones

El metabolismo del selenio en las células de levadura es un proceso extremadamente complejo. Es preciso un análisis más exhaustivo de las formas y las transformaciones de los compuestos selenados para una mejor comprensión de su acumulación. El camino de éstos en la célula transita por la reducción continuada hasta llegar a selenuro que es el punto de partida para su incorporación en las proteínas en forma de selenometionina y selenocisteína. La formación de éstos dependerá de la demanda para ser empleado o de lo contrario existe la posibilidad que parte se elimine por medio de formas metiladas.

No obstante, la obtención de levaduras enriquecidas en selenio para usarlas tal cual o en la producción de materiales proteínicos y minerales para ser suplementados en la dieta y superar deficiencias metabólicas de éste elemento esencial.

Referencias

1. Ammann AA. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. *J. Mass Spectrom* 2007. 42: 419 – 427
2. Bruyn GW: Huntington's chorea: historical, clinical and laboratory synopsis. In *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 6. Edited by: Vinken PJ, Bruyn GW. Elsevier Amsterdam; 1968:298-378.
3. Demirci A, Pometto AL 3rd, Cox DJ: Enhanced organically bound selenium yeast production by fed-batch fermentation *J Agric Food Chem*.1999, 47(6):2496-500.
4. Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Sign* 2011; 14: 1337-83.
5. Fengxue X, Min J Biosynthetic Technology and Bioprocess Engineering In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 2019 207-232
6. Huntington's disease collaborative research group: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993, 72:971-983.
7. Ingledew, WM: Yeasts for production of fuel ethanol In, *The Yeasts*, 2nd ed., vol. 5, A. H. Rose and J. S. Harrison, Eds. pp. 245–291. London: Academic Press 1993.
8. Johri A, Beal MF. Antioxidants in Huntington's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2012 May;1822(5):664-74.
9. Kieliszek M, Blazejak S, Wrobel AB. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells. *Mol Biol Report* 2019, 46:1797-1008
10. Klis, FM, Mol, P, Hellingwerf, K, Brul, S: Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* *FEMS Microbiol Reviews* 2002, 26 (3), 239–256
11. Kordialik-Bogacka, E: Surface properties of yeast cells during heavy metal biosorption *Central Eur J Chem* 2011, 9 (2):348-351
12. Kovtun, IV, Liu, Y, Bjoras, M, Klungland, A, Wilson, SH, McMurray, CT: OGG1 initiate age-dependent CAG trinucleotide expansion in somatic cells. *Nature* 2007, 447:447-452
13. Levin, HL, Moran, JV: Dynamics interactions between transposable elements and their hosts: *Nature Rev Genetics* 2011 DOI:10.1038/nrg3030
14. Lin, MT and Beal, MF Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases *Nature* 2006 443, 787–795

15. Marinescu G, Teodofoff T, Stoicescu AG: Industrial nutrient medium use for yeast selenium preparation *Food Technology* 2011, 35 (1) 45-53
16. Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions *Molecules* 2013, 18: 3292-3311
17. Moore D, Robson DG, Trinci AP. 21st Century Guidebook to Fungi, 2nd Ed. 2018
18. Nisamedtinov I: Selenium yeast production: a fully controlled fermentation process Lallemand's International Selenium Yeast seminar (Grenaa, Denmark, 2007)
19. Olas B, Saluk-Juszczak J, Pawlaczyk I, Nowak P, Kolodziejczyk J, Gancarz R, Wachowicz B: Antioxidant and antiaggregatory effects of an extract from *Conyza canadensis* on blood platelets in vitro. *Platelets* 2006 17(6):354-60.
20. Pistón M, Silva J, Pérez-Zambra R, Knochen M. Determination of total selenium by multicommutated-flow [hydride generation atomic absorption spectrometry](#). Application to cow's milk and infant formulae. *Anal. Methods*, 2009, 1: 139-143
21. Ponce de León CA, Bayón MM, Paquin C, Caruso JAJ: Selenium incorporation into *S. cerevisiae* cells: a study of different incorporation methods *Appl Microbiol* 2002, 92(4):602-10.
22. Rosen BP, Liu Z: Transport pathways for arsenic and selenium: a minireview *Environ Int.* 2009, 35(3):512-5.
23. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principios de análisis instrumental, 2007. Santa Fe. Cengage Learning (6^a ED.).
24. Walker, FO: Huntington's disease, *The Lancet* 2007, 369 (9557), 218–228,.
25. Wang Z, Zhang L, Tan T: High cell density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* GS2 for selenium-enriched yeast production *Korean Journal of Chemical Engineering* 2010, 27 (6): 1836–1840
26. Warby, SC, Visscher, H, Collins, JA: HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Human Genetics* 2011, 19 (5); 561–566
27. Yin Y, Wang RR, Wang Y, Wang JJ, Xu GX: Preparation of Selenium-enriched *Bifidobacterium longum* and its effect on tumor growth and immune function of tumor-bearing mice *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2014, 15 (3681-86), 2014
28. Xin F, Jiang M. Biosynthetic Technology and Bioprocess Engineering *Current Dev Biotechnol Bioeng*, 2019:207-232
29. Yoshinaga M, How S, Blanco D, Murdoch IS, Grudny M, Powers SL, Molina N, Rosen BP, Welch AZ: Directed evolution of *S. cerevisiae* for increased selenium accumulation *Microorganisms* 2018, 6, 81

6 Elaboración de un producto fermentado símil yogurt, a partir del suero lácteo (Preparation of a fermented product, simile yogurt, from cheese whey) Anahi Cuellas

Anahí Virginia Cuellas

Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina

Email: acuellas@gmail.com

Resumen

Con el objetivo de aprovechar el valor nutricional del suero de quesería y minimizar los efectos de contaminación del mismo se desarrolló un producto lácteo fermentado que contiene una alta proporción de suero lácteo en su formulación. Siguiendo el protocolo industrial para la elaboración de yogurt, se evaluaron distintos porcentajes de sustitución de leche por lactosuero y el efecto del agregado de hidrocoloides en las propiedades organolépticas del producto final. Los ensayos incluyeron las pruebas reológicas, sensoriales y microbiológicas solicitadas por el Código Alimentario Argentino.

Palabras clave: lactosuero, yogurt, efluentes lácteos.

Abstract

In order to take advantage of the nutritional value of the whey and minimize the effects of contamination, a fermented dairy product was developed that contains a high proportion of whey in its formulation. Following the industrial protocol for the manufacture of yogurt, different percentages of milk replacement by whey and the effect of the addition of hydrocolloids on the organoleptic properties of the final product were evaluated. The experiments included the rheological, sensory and microbiological tests requested by the Argentine Food Code.

Keywords: Whey, yogurt, dairy effluents.

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

El poder contaminante del suero lácteo y su atractivo valor nutricional han incentivado el desarrollo de investigaciones orientadas hacia su aprovechamiento a escala industrial (Monsalve y González, 2005). El proceso de globalización e innovación tecnológica trajo aparejado la incorporación de conductas de gestión ambiental. La complejidad del tratamiento a efectuar depende de múltiples factores asociados al tipo y tamaño de la empresa y la composición particular del efluente generado y en muchos casos se requieren inversiones que resultan altamente costosas para algunas PyMEs del sector (Cuellas y Wagner, 2008). Si bien la tecnología de separación por membrana ha posibilitado la recuperación de proteínas, su implementación representa una inversión importante en equipamiento y un costo considerable de proceso, siendo viable sólo en plantas que procesan más de 300.000 l/día de leche (Grasselli, 1997; Jelen, 2003; González Cáseres, 2012). Debido al elevado costo de las maquinarias necesarias para el tratamiento del efluente, no se ha observado una evolución similar en empresas más chicas y Pymes.

El pequeño y mediano productor quesero en general no dispone de recursos ni equipos industriales para el tratamiento del lactosuero, ni de sistemas tratamiento de aguas residuales. Algunos han implementado piletas de recolección de suero para su uso en alimentación de ganado porcino, sin embargo, el nivel de efluentes producido excede esa conducta y exige la incorporación de tratamientos y soluciones más complejas (Sánchez et al, 2012). En la tabla 1 se presenta el destino del efluente lácteo en relación con el tamaño del establecimiento quesero.

Tabla 1: Utilización actual del suero de quesería. Marcelo González. INTI. Ministerio de la Industria. Presidencia de la Nación. Agosto 2013

Capacidad de procesamiento de leche	% Empresas Queseras	Destino del lactosuero
Hasta 10.000 l/día	47	Volcado a ríos y lagunas/ alimento porcino
Entre 10.000 y 50.000 l/día	35	Volcado a ríos y lagunas/ alimento porcino/ricota
Entre 50.000 y 250.000 l/día	13	Ricota/ separación por membrana de ultrafiltración
Más de 250.000 l/día	5	separación por membrana de ultrafiltración / lactosa grado farmacopea

La investigación científico-tecnológica sobre la recuperación y revalorización de este efluente es de vital importancia, tanto para su aprovechamiento integral como para el desarrollo de métodos simples y económicos aplicables en la mediana y pequeña industria (Miranda, 2007). En este marco es imprescindible analizar la composición del suero lácteo y analizar la posibilidad de aplicar procesos diversos.

Un alimento fermentado es un tipo de producto alimenticio caracterizado por diversas degradaciones de los carbohidratos. La mayoría de los alimentos fermentados contienen una mezcla compleja de carbohidratos, proteínas, grasas y otros compuestos, que se modifican simultáneamente a través de la acción de diversos microorganismos y enzimas. En las fermentaciones alimentarias específicas se requiere controlar los tipos de microorganismos responsables y las condiciones ambientales necesarias para producir el producto deseado (Watson, 1992).

los productos lácteos fermentados, están ampliamente distribuidos en el mercado, el más conocido en esta categoría es el yogur, que se define según el Codex Alimentarius, como leche (usualmente de vaca en la actualidad) que ha sido fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* bajo condiciones definidas de tiempo y temperatura. Cada especie de bacterias estimula el crecimiento de la otra, y los productos de su metabolismo combinado dan como resultado la textura cremosa característica y el ligero sabor ácido. También el yogurt contiene otros aditivos tales como sólidos lácteos, azúcares, frutas, etc.

La capacidad de estos microorganismos para utilizar lactosa como fuente de carbono y energía y producir ácido láctico permite la obtención de este producto que posee una serie de compuestos que le otorgan el sabor, el aroma y la textura, propiedades que lo caracterizan (Walstra, et al., 2001). La presencia de esta azúcar en el suero de quesería, permite formular un producto semejante que conserve las propiedades características del yogurt y aproveche las ventajas nutricionales del subproducto quesero.

Como principal objetivo de este trabajo se propone emplear el lactosuero como materia prima de la industria alimentaria para elaborar yogur, un producto lácteo que utiliza una tecnología sencilla, de fácil implementación en pequeñas y medianas empresas queseras

Materiales y Métodos

Suero de queso en polvo, Lácteos Vidal S.A. Leche entera ultra pasteurizada, Armonía. Cultivo Lácteo FD-DVS YF-L812 Yo- Flex, compuesto por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Sacarosa, Ledesma S.A. Hidrocoloides: Goma Xántica (El Bahiense), Goma Guar (El Bahiense), Gelatina (El Bahiense), Yog P (HIS Ingrediens Solutions) y Yog PB (HIS Ingrediens Solutions). El suero en polvo fue reconstruido al 5% p/v, tal como se encuentra naturalmente en el efluente lácteo

Métodos

1. Determinación del tiempo de fermentación adecuado.

En primer lugar, se determinó el tiempo de fermentación adecuado realizando un estudio de la variación de pH vs. tiempo de fermentación, utilizando una muestra con 50% de suero, la cual más se aproximaría a la que se desea obtener como producto final. El protocolo utilizado se adecua al proceso de elaboración de yogurt que se detalla en la figura 1.

Figura 1: Diagrama de Flujo para la obtención de yogurt (Tamine y Robinson, 1991).



2. Formulación de un yogurt con distintos porcentajes de sustitución con suero lácteo.

Con el objetivo de obtener la mayor sustitución de leche por suero lácteo se realizan seis formulaciones variando la proporción de estos componentes y manteniendo la concentración de sacarosa y cultivo iniciador constante (Tabla 3). Estas muestras (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) se sometieron al protocolo de elaboración de yogurt expuesto en la figura 1 y sus propiedades organolépticas fueron evaluadas por un panel sensorial con la metodología de Ordenamiento de Preferencia.

Tabla 2: Formulaciones evaluadas por Ordenamiento de Preferencia

Componente	M1	M2	M3	M4	M5	M6
------------	----	----	----	----	----	----

Leche (ml)	100	75	50	40	30	0
Lactosuero	0	25	50	60	70	100
Cultivo (ml)	0.8	08	0.8	08	0.8	08
Sacarosa (g)	6	6	6	6	6	6

3. Incorporación de hidrocoloides.

Para determinar la incorporación de hidrocoloides al producto se realizó el estudio reológico del mismo con el agregado de distintas gomas

El análisis reológico se basa en la deformación de un cuerpo sometido a esfuerzos externos, en función del tiempo (Muller, 1977). El comportamiento de flujo fue analizado aumentando linealmente la velocidad de corte de 0,1 a 100 s⁻¹ durante 210 s, luego manteniéndola constante a 100 s⁻¹ durante 60 s, y finalmente disminuyéndola linealmente de 100 a 0,1 s⁻¹ durante 210 s, con un reómetro AR-G2 (TA Instruments; New Castle, EE.UU.) (Perea et al, 2006). En todos los casos, el análisis se realizó por duplicado y se realizó un promedio con los datos entregados por el sistema.

4. Determinación del dulzor del producto.

La determinación de la concentración final de sacarosa en el producto se evaluó mediante la técnica de ordenamiento por preferencia, comparando muestras con distintos porcentajes del azúcar. Las muestras ensayadas en el panel sensorial se detallan en la tabla 3.

Tabla 3: Evaluación del dulzor del yogurt.

Componente	M1	M2	M3	M4	M5
Leche (ml)	40	40	40	40	40
Lactosuero	60	60	60	60	60
Cultivo (ml)	0.8	08	0.8	08	0.8
hidrocoloides	constante	constante	constante	constante	constante
Sacarosa (g)	6	6	6	6	6

5. Vida útil sensorial y análisis microbiológicos

Para determinar la vida útil sensorial del yogurt, se utiliza el método de supervivencia, que es una herramienta de análisis sensorial que proporciona información real de la opinión de los consumidores. Esta metodología permite estimar el momento de la vida útil a partir del cual el producto podría ser rechazado por el consumidor (Hough y Fiszman, 2005). Para esta experiencia, se diseña un panel sensorial con jueces consumidores comparando varias muestras del producto a distintos tiempos de almacenamiento, incluyendo una muestra del producto recién fabricado.

Se le pregunta al consumidor si consumiría/compraría o no el producto, y se estima el porcentaje de rechazo de los consumidores según el tiempo de almacenamiento del producto (Hough y Fiszman, 2005).

Para estos ensayos el producto se conservó a 4°C y las muestras fueron tomadas una vez por día a la misma hora, por duplicado, durante 15 días.

Los análisis microbiológicos se ajustaron al Código Alimentario Argentino, definido en el artículo 576, Capítulo VIII.

- Recuento de bacterias lácticas totales

(UFC/g) -Norma FIL 117 A: 1988

- Recuento de levaduras específicas (UFC/g) -

Norma FIL 94 B: 1990

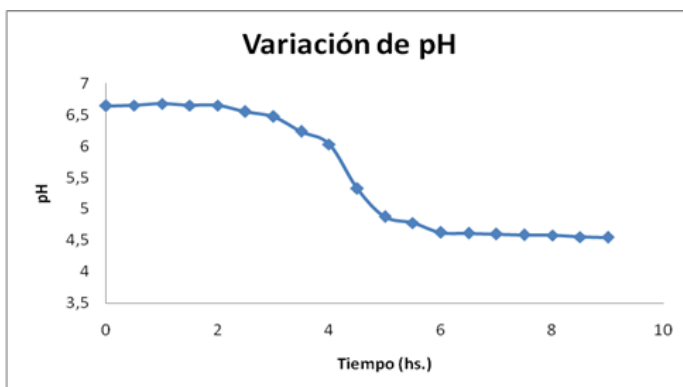
Resultados y Discusión

1. Determinación del tiempo de fermentación adecuado

Cuando se inicia la fermentación láctea, el pH de 6,8 es favorable para el desarrollo del *Streptococcus termophilus* que produce ácido fórmico y dióxido de carbono, bajando así el pH hasta 5, aproximadamente. De este modo se estimula el crecimiento del *Lactobacillus bulgaricus*, que a su vez favorece el crecimiento del *Streptococcus termophilus* por la producción de nutrientes como ácido láctico, péptidos y aminoácidos como la valina.

La formación de ácido láctico desciende el pH, provocando la coagulación láctica. A un pH de 4,6 las caseínas están en su punto isoeléctrico y son completamente insolubles, confiriéndole al yogur su consistencia semisólida característica. En los productos lácteos fermentados, la fermentación culmina cuando se alcanza y se estabiliza un valor de 4,2 a 4,5 de pH aproximadamente. Una vez lograda la acidez requerida, debe enfriarse a 4 o 5°C para detener la fermentación y evitar que se siga produciendo ácido láctico. Como se muestra en la figura 2, la acidez necesaria se logra a las seis horas de fermentación.

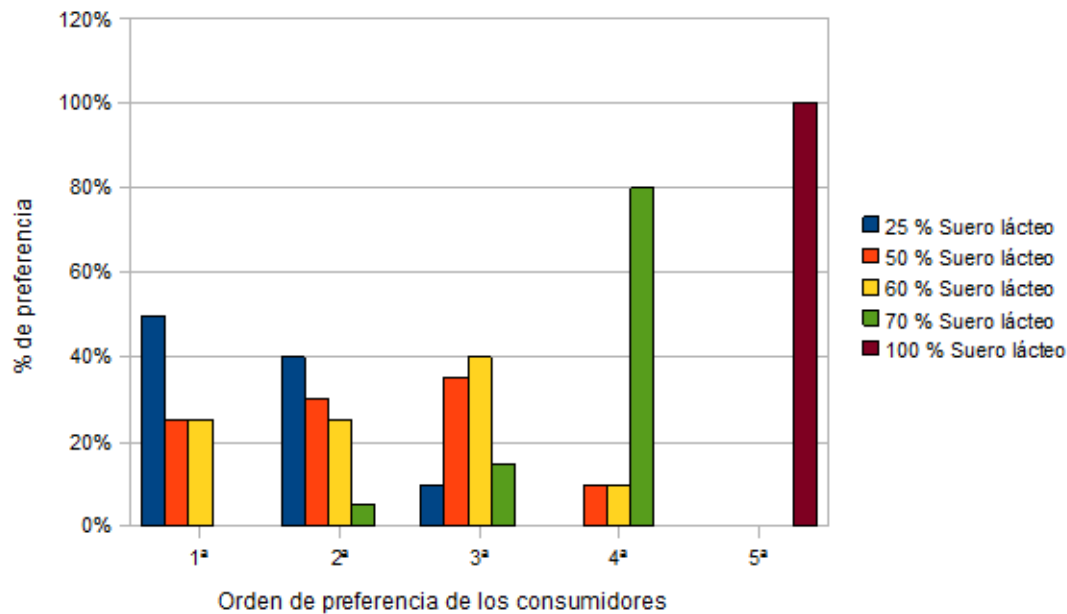
Figura 2: Determinación de la variación del pH en el tiempo de la muestra M3 (reemplazo del 50% de la leche por suero lácteo)



2. Formulación de un yogurt con distintos porcentajes de sustitución con suero lácteo

Como se observa en la figura 3 de prueba de ordenamiento por preferencia, las muestras con una sustitución de 100, 70 y 25% de suero presentadas en el panel sensorial fueron descartadas. Las muestras con 50 y 60% de sustitución por suero lácteo son las de mejores características organolépticas. En los ensayos sensoriales de preferencia, los panelistas ordenen una serie de muestras en forma creciente según características o atributos que se estén evaluando. Si bien los resultados son sumamente importantes para la formulación del producto, estos no indican la magnitud o tamaño de la diferencia entre las muestras sucesivas

Figura 3: Resultados de las pruebas de preferencia de las diferentes variaciones de sustitución de leche por suero lácteo.



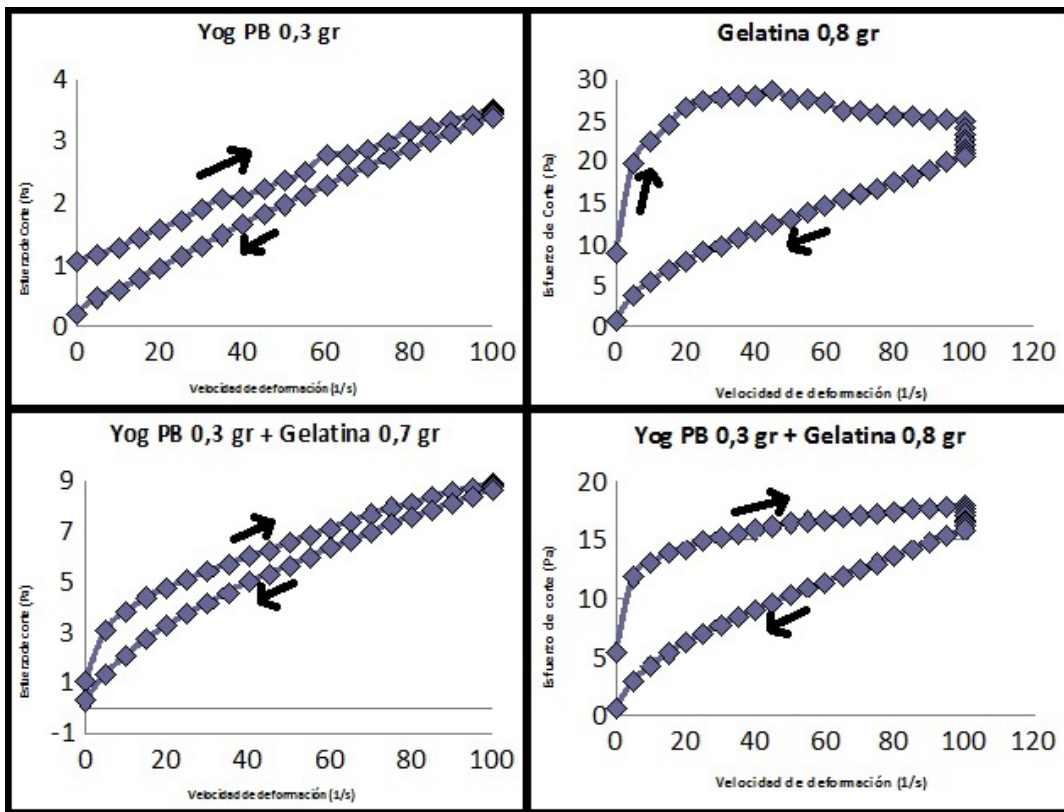
3. Incorporación de hidrocoloides

En la figura 4 se muestra el comportamiento de las distintas muestras al aplicarle una fuerza de corte. El comportamiento de flujo fue analizado aumentando linealmente la velocidad de corte de 0,1 a 100 s-1 durante 210 s, luego manteniéndola constante a 100 s-1 durante 60 s, y finalmente disminuyéndola linealmente de 100 a 0,1 s-1 durante 210 s, como se indica con las flechas.

Como se puede observar en todos los casos, se trata de fluidos pseudoplásticos, ya que la viscosidad aparente disminuye al aumentar la velocidad de deformación y tiene un comportamiento isotrópico (Muller, 1977). Por otro lado, se puede observar que la muestra 1, que sólo contiene como estabilizante YOG PB, se deforma aplicando una muy pequeña fuerza, indicando la formación de un gel muy débil. La muestra 3, que contiene la misma cantidad de YOG PB y gelatina, necesita más del doble de la fuerza de corte aplicada en la muestra 1 para lograr igual velocidad de deformación. La muestra 2, que contiene gelatina como único estabilizante, necesita el doble de fuerza para obtener igual velocidad de corte que la muestra 3 y aproximadamente 5 Pa más que la necesaria para la muestra 4. Estas observaciones sugieren que la gelatina es el gelificante que gobierna la viscosidad, resistencia, tixotropía y consistencia, afectándolos en forma directa, produciendo un comportamiento lineal y promoviendo en el coágulo una mayor estabilidad y mayor resistencia a los tratamientos mecánicos.

El estabilizante Yog PB tiene bastante menor influencia, y en forma variable, impartiendo más cremosidad. Esto indica que al utilizar gelatina como único estabilizante el gel resultante es muy firme con respecto a lo que se desea para el producto, y que la sinergia que se produce entre los estabilizantes YOG PB y la gelatina genera un producto estable en el tiempo y un gel más elástico, similar a los ofrecidos en el mercado como yogur batido.

Figura 4: Comportamiento reológico de las muestras frente a la incorporación de distintos hidrocoloides



En la Tabla 4, se compara las viscosidades aparentes en un punto medio (60,04 Pa), para que los datos no se vean distorsionados por errores generados por los equipos. Como formulación óptima fue elegida, la muestra 4, que al ser comparada con la muestra 3, presenta un gel más estable, mayor viscosidad (aunque no tanto como en la muestra 2). A partir de los resultados expuestos, podemos observar que la muestra 4 cumple con las características de textura, aroma y aspecto deseadas para el producto final.

Tabla 4: Viscosidades aparentes de las muestras con el agregado de hidrocoloides.

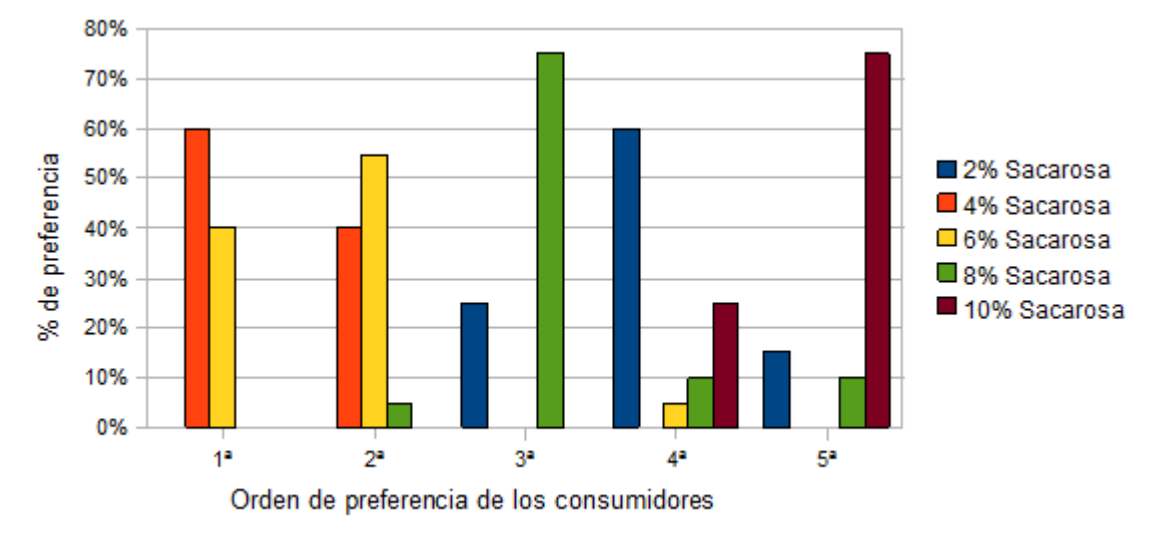
MUESTRA	Viscosidad aparente (Pa. S)
M1	0.04
M2	0.3
M3	0.09
M4	0.19

4. Determinación del dulzor del producto

En la evaluación sensorial por orden de preferencia (Figura 5) se determinó que las muestras que contenían 2 y 10 g p/v de sacarosa en su formulación final fueran descartadas por su percepción ácida y muy dulce, respectivamente. Por el contrario, las muestras con 4 y 6 p/v g de sacarosa fueran elegidas por los panelistas.

Por tanto, considerando el costo final del producto y el dulzor aportado por el colchón de fruta, se determinó que 4g p/v de sacarosa es la cantidad óptima para que el yogur sea elegido por los consumidores

Figura 5: Resultados de las pruebas de preferencia de los consumidores frente a distintas concentraciones de azúcar en el producto



5. Vida útil sensorial y análisis microbiológicos

Manteniendo el producto en las condiciones adecuadas de almacenamiento, el yogur a base de suero lácteo, conserva sus condiciones microbiológicamente aptas hasta 15 días. Sin embargo, el producto tiene una vida útil estimada de diez días, ya que luego comienza lentamente a variar sus atributos organolépticos y el 40 % de los consumidores rechazan el producto. Los defectos sensoriales en el alimento suelen aparecer mucho más rápido que la pérdida de inocuidad. Por lo tanto, pasadas las barreras sanitarias y nutricionales, la barrera restante depende en definitiva de las propiedades sensoriales del producto (Anzaldúa y Morales, 1994).

Desde el punto de vista sensorial, la Norma ASTM E2454 (2005) define la vida útil como “El tiempo durante el cual las características y desempeño del producto se mantienen como fueron proyectados por el fabricante. El producto es consumible o usable durante este período, brindándole al usuario final las características, desempeño y beneficios sensoriales deseados”.

Análisis microbiológicos

Los análisis realizados fueron de coliformes a 30°C y a 45°C, y de hongos y levaduras por conteo en placas (Tabla 5). Los resultados obtenidos se ajustan a los solicitados por el Código Alimentario Argentino para yogures, definidos en el artículo 576, Capítulo VIII. Se realizaron a los días 0, 5, 10, 15 y 20, confirmando que los parámetros establecidos se cumplan durante todo el periodo.

Conclusiones

El efluente fue utilizado exitosamente como materia prima en el desarrollo de un producto lácteo fermentado, similar a yogur, altamente aceptado por un panel sensorial, de buenas características organolépticas y amplias posibilidades de inserción en el mercado.

Distintos ensayos permitieron reemplazar el 60% de leche por lactosuero, manteniendo las características similares a las de un yogur neutro y textura semejante a un yogur batido. El proceso de elaboración requiere una tecnología sencilla y equipos de uso frecuente en la industria láctea, por

lo que este procedimiento es de fácil incorporación en industrias pequeñas y medianas y puede acoplarse a las líneas de producción de plantas queseras. Los resultados de los análisis microbiológicos correspondieron a los requeridos por el Código Alimentario Argentino, determinando que el producto obtenido es apto para el consumo humano.

El empleo de esta tecnología ayudará a los productores de queso a reducir el impacto ambiental que ocasiona la mala disposición del suero, de modo que la inversión se justifica mediante el paso que se da en el cumplimiento de la legislación que afecta a las queseras y el aumento de rentabilidad al agregar nuevos productos a la línea de producción de la planta.

Con respecto al impacto esperado, en Latinoamérica existe un gran número de industrias queseras de tamaño medio y pequeño que no cuentan con los medios necesarios para realizar grandes inversiones, por lo que la incorporación de tecnología de secado con planta de lactosa y/o concentrado de suero resulta imposible. El aprovechamiento de este efluente como materia prima de productos alimenticios sería entonces una solución factible y de fácil implementación para la mejora de procesos y la obtención de productos con mayor valor agregado.

Referencias Bibliográficas

1. Atra, R.; Vatai, G.; bekassy-Molnar, E.; balint, A. Investigation of ultra-and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal of Food Engineering*. 2005, 67(3):325-332.
2. Anzaldúa Morales, Antonio. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. 198 p. Zaragoza: Acribia, 1994.
3. Cuellas Anahí. Aprovechamiento industrial del suero de quesería. Obtención de una bebida energizante a partir del efluente. *Tecnología Láctea Latinoamericana*. 2008, (49):56-58.
4. Cuellas A, Wagner J. Elaboración de bebida energizante a partir de suero de quesería. *Revista de Laboratorio Tecnológico del Uruguay*. Nº 5, pág. 54-57. 2010.
5. Cuellas A., Jaus R. and Wagner J. Optimization of Proteins Recovery Process from Cheese Whey.: *Journal of Agricultural Science and Technology*.: David Publishing Company. 2015 vol.4. issn 1939-1250.
6. González Cáseres, Marcelino de Jesús. Aspectos medioambientales asociados a los procesos de la industria láctea. *Mundo pecuario*. Vol VIII, Nº1, pag 16 a 32. 2012.
7. González Marcelo. Utilización actual del suero de quesería. INTI. Ministerio de la Industria. Presidencia de la Nación. Agosto 2013.
8. Grasselli M. Navarro del Cañizo A., Fernández Lahore H., Miranda M., Camperi S. y Cascone O. Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. FF y B. UBA. Artículo "¿Qué hacer con el suero del queso? *Revista Ciencia Hoy*. 1997. Volumen 8, Nº 43, Nov/Dic.
9. Hough G., Fiszman S. Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Publisher, Programa CYTED, 2005.
10. Jelen, P. (2003). Whey processing: Utilization and products. En H. Roginski, J.W. Fuquay, & P.F. Fox, *Encyclopedia of dairy sciences*. 2003. Vol. 4: 2739-2745. Londres: Academic Press (Elsevier Science).
11. Miranda, Oscar. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de calidad. *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*. 2007, 17(2):103-108.
12. Monsalve J.; González D. Elaboración de un queso tipo Ricota a partir de suero lácteo y leche fluida. En: *Revista Científica*. 2005, XV (6):543-550.
13. Muller, H. G. *Introducción a la reología de los Alimentos*. Ed Acriba Zaragoza, España. Pag174-180. 1977
14. Prada S., Arnoldi J., Cuellas A. Aprovechamiento de efluentes lácteos: incorporación de lactosuero en la formulación de yogur. *Tecnología Láctea Latinoamericana* Nº 86. 2015

15. Sánchez, C; Suero, M; Castignani, H; Terán, JC; Marino, M. "La lechería argentina: estado actual y su evolución (2008 a 2011)". INTA Rafaela. 2012
16. Smithers, Geoffrey. Whey and whey proteins. From 'gutterto-gold'. International Dairy Journal. 2008, 18(7):695-704.
17. Tamine, A y Robinson, R, Yogur ciencia y tecnología. 1A Edición. Editorial, Acribia, S. A. Zaragoza (ESPAÑA). 1991.

7 Obtención de ácido láctico a partir de la fermentación del suero de leche con *Lactobacillus bulgaricus* (Obtaining lactic acid from the fermentation of whey with *Lactobacillus bulgaricus*) MSC. Vicky Alejandra Mendoza

Vicky Alejandra Mendoza-Pico¹, Ernesto Alonso Rosero-Delgado², Julio Amílcar Pineda Insuasti³

¹Universidad de Jaén, Jaén, España

²Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador

³Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente, Ibarra, Ecuador

Email: eroser@utm.edu.ec

Resumen

El suero de leche es un subproducto de la industria láctea que contamina al medio ambiente cuando es vertido en el suelo. El aprovechamiento del mismo para la producción de ácido láctico utilizando la bacteria *Lactobacillus bulgáricus* como agente biológico en un sistema de fermentación líquida (FEL), fue estudiado en esta investigación. Se optimizaron las variables físicas pH_{inicial} y temperatura de fermentación, siendo 5,2 y 55 °C los valores determinados. La velocidad específica de crecimiento (μ) del microorganismo en esas condiciones fue de 0,024 h⁻¹ con un comportamiento exponencial. El rendimiento de ácido láctico alcanzado fue de 4,64g/L, con coeficientes de $Y_{X/S}= 0,025 \text{ gg}^{-1}$, $Y_{P/S}=0,081 \text{ gg}^{-1}$.

Palabras clave: Ácido láctico, *Lactobacillus bulgaricus*, suero de leche, fermentación

Abstract

Whey is a byproduct of the dairy industry that pollutes the environment when it is dumped into the soil. The use of it for the production of lactic acid using the bacterium *Lactobacillus bulgáricus* as a biological agent in a liquid fermentation system (FEL), was studied in this research. The initial pH and fermentation temperature physical variables were optimized, with 5.2 and 55 °C being the determined values. The specific growth rate (μ) of the microorganism under these conditions was 0.024 h⁻¹ with an exponential behavior. The yield of lactic acid reached was 4.64g / L, with coefficients of $Y_{X / S} = 0.025 \text{ gg}^{-1}$, $Y_{P / S} = 0.081 \text{ gg}^{-1}$.

Keywords: Lactic acid, *Lactobacillus bulgaricus*, whey, fermentation

Recibido: 18 de agosto de 2019

Aceptado: 18 de septiembre de 2019

Introducción

La producción de lácteos es considerada con una potencial industria de generación de residuos principalmente durante la elaboración de productos como el queso, proceso a partir del cual se generan subproductos como suero de. Tiene una producción mundial de 82 millones de toneladas por año (Winfried 2007). En el Ecuador, el suero simplemente es dado como suplemento alimenticio para los animales o vertido en los campos. El vertimiento directo del lacto suero a fuentes de agua, sin un previo tratamiento, genera un problema de contaminación ambiental; debido a la materia orgánica (García, et. al., 1987).

Según datos del Ministerio de Agricultura, Ganaderías, Acuacultura y Pesca (MAGAP), actualmente en Ecuador se producen 5,4 millones de litros de leche diarios en Ecuador. De este monto, 4 millones de litros son comercializados en los distintos mercados; 2,8 millones de litros son transformados por

industrias formales que procesan derivados y 1,2 millones de litros son vendidos informalmente para elaborar quesos artesanales. A su vez se conoce que unos 1,4 millones de litros quedarían en las haciendas para autoconsumo y para alimentación de terceros (El Telégrafo, 2016). Para obtener un kilogramo de queso, se necesitan aproximadamente 10 litros de leche y se generan 9 litros de lactosuero como subproducto (Hernández y Vélez 2014). La composición nutricional del lactosuero puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche utilizada para la elaboración del queso, el tipo de queso producido y el proceso tecnológico empleado en la elaboración del queso. El suero de leche contiene aproximadamente la mitad de los sólidos que están presentes en la leche, alrededor del 20% de las proteínas, la mayor parte de la lactosa, minerales y vitaminas hidrosolubles (Londoño, 2006).

La fermentación láctica a partir del suero de leche podría ser una de las soluciones para este subproducto de la industria láctea que es considerado como un contaminante, por lo cual, estudios demuestran que se puede obtener ácido láctico de la fermentación de este residuo, pero para que esto sea posible se debe establecer un sistema de control del proceso, el cual es llevado a cabo en equipos denominados biorreactores, que son diseñados mediante estudios rigurosos, para su posterior construcción y operación, con la finalidad de obtener la máxima producción de proceso.

El ácido láctico es un compuesto orgánico, cuya fórmula es $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, posee un grupo hidroxilo adyacente al grupo carboxilo, el ácido láctico se clasifica como un ácido alfa-hidroxi (AHA). De acuerdo con Díaz (2010), el ácido láctico en la forma de su base conjugada llamada lactato, desempeña un papel fundamental en varios procesos bioquímicos, como la fermentación láctica.

La producción mundial de ácido láctico es de 100.000 toneladas por año, con un crecimiento en la demanda del 8,6% anual, debido al potencial que tiene este monómero de producir ácido poliláctico, un polímero biodegradable con aplicaciones industriales y médicas. En Ecuador (Cámara industrial de Guayaquil, 2012) se importan cerca de 286 toneladas anuales de ácido láctico y sus derivados como sales y ésteres. Es así que el uso del suero de leche, para la producción de ácido láctico, podría disminuir las importaciones de este producto y generar una fuente de trabajo a la sociedad.

El ácido láctico puede ser obtenido mediante dos métodos; por síntesis química o por vía biotecnológica. En el caso de la síntesis química, se tiene resultado una mezcla racémica de los ácidos lácticos que consta de tres etapas, La primera etapa se produce a través de la reacción del ácido cianhídrico con acetaldehído en un medio básico, a modo de catalizador, para producir lactonitrilo. La segunda etapa del proceso se basa en la hidrólisis del lactonitrilo en medio ácido, produciendo ácido láctico y sal amónica. La tercera y última etapa es la cristalización y purificación del ácido láctico. Se tienen como condiciones de operación, presión atmosférica y temperatura de 100 °C. El rendimiento total de esta etapa es del 60 % (Pozo García 2010).

La obtención de ácido láctico por la vía biotecnológica o fermentativa, es un proceso celular anaeróbico donde se utiliza glucosa para obtener energía y donde el producto de desecho es el ácido láctico. El proceso de fermentación láctica lo realizan las bacterias ácido láctica (BAL), algunos hongos, algunos protozoos y en los tejidos animales. Las bacterias de ácido láctico son un grupo de bacterias gram positivas que fermentan hidratos de carbono convirtiéndolos en ácido láctico casi en su totalidad (homofermentativa) o a una mezcla de ácido láctico, dióxido de carbono y ácido acético y/o etanol (heterofermentativo), también se producen otros compuestos tales como diacetilo, acetaldehído y peróxido de hidrógeno. Estos compuestos contribuyen al sabor y la textura de los alimentos fermentados y también pueden contribuir a la inhibición de bacterias de ácido láctico (Abdel-Rahman 2011).

El interés por el ácido láctico está relacionado con muchos aspectos, entre los cuales se encuentra su valor agregado relativamente alto. Además, dicho producto químico ha sido reconocido como inofensivo, tiene un mercado con gran potencial de crecimiento, puede producirse alternativamente por fermentación o síntesis química y puede emplear una gran cantidad de diferentes materiales de desecho como sustratos. Su existencia en forma de dos estereoisómeros hace de hecho la aplicación

de uno de ellos o de la mezcla racémica de gran preocupación en diferentes campos. En particular, las industrias alimentaria y farmacéutica tienen preferencia por el isómero L(+), el único que puede ser metabolizado por el cuerpo humano; Sin embargo, la industria química requiere uno de los isómeros puros o una mezcla de ambos, de acuerdo con la aplicación (Martínez 2013). El objetivo de esta investigación fue el aprovechamiento del lactosuero proveniente de los procesos de obtención del queso, para la producción de ácido láctico utilizando la bacteria *Lactobacillus bulgáricus* como agente biológico en un sistema de fermentación líquida (FEL).

Materiales y Métodos

Proceso Fermentativo

a. Preparación del inóculo

En un matraz 250 ml se mezclaron 55 gramos del medio de cultivo MRS marca *CRITERION* y se disolvieron en 200 mL de agua destilada, esta mezcla se sometió a esterilización a 121 °C a 103,7 kPa durante un tiempo de 15 minutos. Se dejó enfriar el medio de cultivo hasta temperatura ambiente y se inocularon 0,2 gramos de la cepa liofilizada de *Lactobacillus bulgáricus* marca CHR – Hansen YC XII. El matraz se colocó en una incubadora de marca *MEMMERT- CLN53ECO S/N CN5ED 11007* a una temperatura de 42,5 °C por un tiempo de 24 horas.

La concentración de células en el medio fue determinada mediante la metodología seguida por (XC 1993) mediante una cámara de Neubauer marca *MARIENFELD*.

b. Estandarización del suero de leche

Se utilizó 3 matraces de 1000 mL en donde se colocó 700 mL de suero de leche. Se ajustó el pH inicial a 4, 5 y 6 y se sometió a esterilización a una temperatura de 121 °C y 103,7 kPa por un tiempo de 15 minutos. Se dejó enfriar hasta una temperatura entre 30-35 °C y se filtró por medio de una bomba al vacío, utilizando papel filtro de 1 µm. Una vez filtrado el suero de leche se procedió a centrifugar a 5000 rpm por 5 minutos, para las partículas en suspensión.

c. Inoculación del medio y fermentación

Se tomaron 10 ml del microorganismo en caldo MRS para inocular cada uno de los matraces con el suero de leche esterilizado, dando un total de 200 ml de medio en fermentación en cada matraz.

Una vez inoculados los matraces se llevaron a la incubadora *MEMMERT- CLN53ECO S/N CN5ED 11007*,

d. Determinación de las condiciones óptimas de fermentación

Se establecieron 27 corridas experimentales en un diseño multifactorial según lo expresado en la tabla 1. Las variables de respuesta fueron la producción de ácido láctico (g/mL) y la concentración de biomasa generada (cel/mL)

Tabla 1. Diseño factorial multinivel 3² utilizado para evaluar la influencia del pH inicial y la temperatura de fermentación sobre la producción de ácido láctico y crecimiento de la biomasa

Factor	Bajo	Intermedio	Alto
pH inicial	4	5	6
Temperatura	35 °C	45 °C	55 °C

e. Determinación de la producción ácido láctico.

La concentración de ácido láctico fue determinada por el método colorímetro con cloruro férrico (Cristina 2015), el cual en contacto con el ácido láctico forman el lactato ferroso el cual ocasiona un cambio de color que se detecta por medio espectrofotometría a una longitud de onda de 460nm.

f. Determinación de la dinámica del pH

Se utilizó un potenciómetro de marca *ACUMENT AB-150* para conocer las variaciones que tenía el pH durante el tiempo de fermentación, esta medición se realizó cada 30 minutos desde el inicio de la fermentación.

Resultados y Discusión

Optimización de los parámetros de fermentación

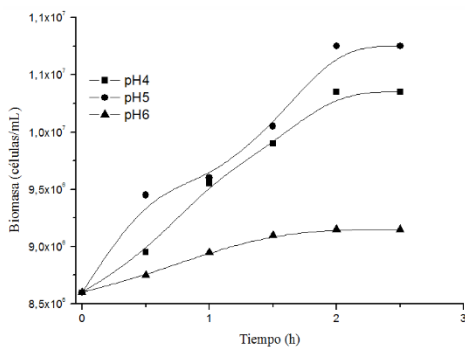
En la primera columna de la figura 1, se observan el crecimiento de la biomasa a diferentes valores de pH inicial y temperaturas de fermentación (A1, A2 y A3). Los valores de crecimiento de biomasa más bajos observados, se obtuvieron con valores de pH inicial de 4 y 6 y temperaturas de fermentación de 35 y 45 °C (A1 y A2), comportamiento similar al observado por (Waldir Estela 2007) quienes mencionan que los valores más bajos de crecimiento de la biomasa se obtienen con un valor pH inicial igual a 6 y una temperatura de fermentación de 38 °C, similar es el informe de (Venkatesh, Okos et al. 1993) quienes mencionan que valores mínimos de crecimiento celular se obtienen con un pH inicial de 4,5 y una temperatura de fermentación de 45 °C, por lo que se podría mencionar que estas condiciones de pH inicial y temperatura de fermentación el crecimiento celular es limitado.

La producción máxima de ácido láctico (figura 1) fue de 4,64 g/L con condiciones de pH inicial igual 5,2 y una temperatura de fermentación de 55 °C (B3) durante las 2 primeras horas de fermentación convirtiéndose constante a partir de ese momento. Estudios realizados por (Roy, 1986) reportan producciones de ácido láctico de 2,7 g/L a las 24 horas de fermentación, por otro lado en otro estudio los mismos autores (Roy, 1987) obtienen como máximos resultados de producción de ácido láctico 9,7 g/L a una temperatura de fermentación 42 °C, mientras que los autores (Venkatesh KV 1993) obtuvieron como máxima producción de ácido láctico 2 g/L a una temperatura de fermentación 42 °C en 8 horas y (Jakymec, 2001) reportó un máximo valor de ácido láctico de 6,2 g/L con una temperatura de fermentación 45 °C en 12 horas. Los valores de máximos producción de ácido láctico obtenidos por los distintos autores están entre 2 g/L y 9,7 g/L, intervalo dentro del cual se encuentra el valor máximo obtenido en la presente investigación.

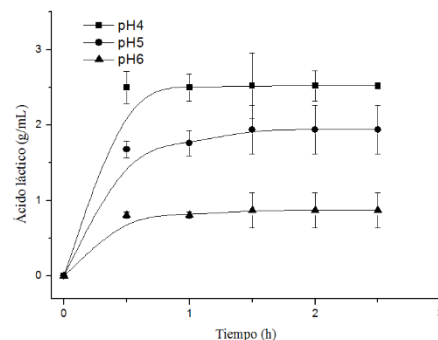
Se observa un valor máximo de 1,91 E7 células/mL de crecimiento de la biomasa, con un valor de pH inicial igual a 5 y a una temperatura de fermentación de 55 °C hasta las 2 horas de fermentación, periodo después del cual el crecimiento se mantiene constante; estos valores son menores con los reportados por (Zayed G 1995) quienes informan un valor máximo de crecimiento celular con 40 E6 células/mL a las 20 horas de fermentación con una temperatura de 30 °C, sin embargo, cabe mencionar que los autores usados como referencia utilizaron otra especie de *Lactobacillus*, siendo esta una de las posibles razones por las que se obtiene una diferencia marcada en los resultados comparados con la presente investigación.

TEMPERATURA 35°C

A1



B1



TEMPERATURA 45°C

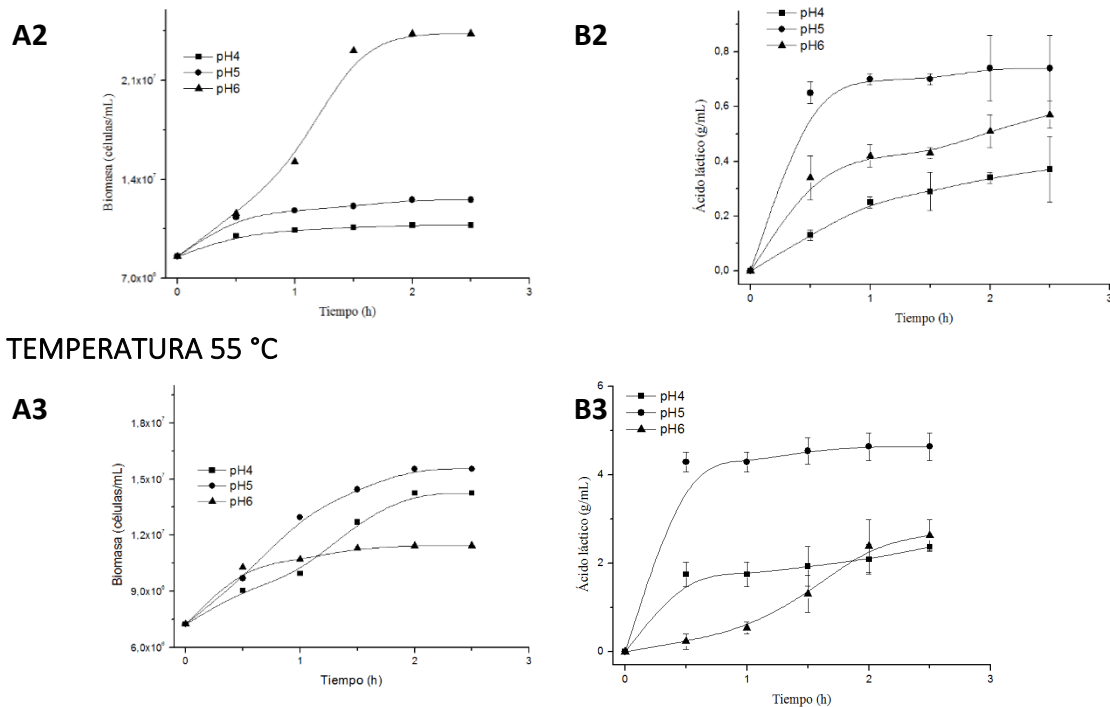


Figura 1 Crecimiento celular (A) y producción de ácido láctico (B) bajo condiciones específicas de pH inicial y temperatura de fermentación del suero de leche con *Lactobacillus bulgaricus*.

Análisis Estadísticos

En la tabla 2. Se observa la combinación de los niveles de los factores óptimos predichos, con los cuales se obtiene el máximo crecimiento de biomasa y la mayor producción de ácido láctico, obtenidos por el método de superficie de respuesta.

Valores óptimos predichos:

Biomasa= 1,58 E7 células/mL

Ácido Láctico= 3,71 g/L

Tabla 2. Valores óptimos de pH inicial y temperatura de fermentación obtenidos mediante análisis estadísticos

Factor	Bajo	Intermedio	Alto	Óptimo
pH inicial	4	5	6	5,2
Temperatura	35 °C	45 °C	55 °C	55 °C

Los resultados de la fermentación del suero de leche con *Lactobacillus bulgaricus* utilizando los niveles de los parámetros predichos con la metodología de superficie de respuesta que permiten obtener condiciones óptimas de crecimiento y producción determinados estadísticamente se observan en la Figura 2., con las cuales se alcanza un valor de crecimiento de la biomasa con una concentración máxima de 1,57 E7 células/mL, y una producción máxima de ácido láctico de 3,78 g/L, comparados con los valores óptimos obtenidos predichos, existe un error relativo de 0,006 % para el crecimiento de la biomasa y 0,018 % para la producción de ácido láctico, es decir los valores obtenidos experimentalmente son iguales o similares a los predichos en la optimización.

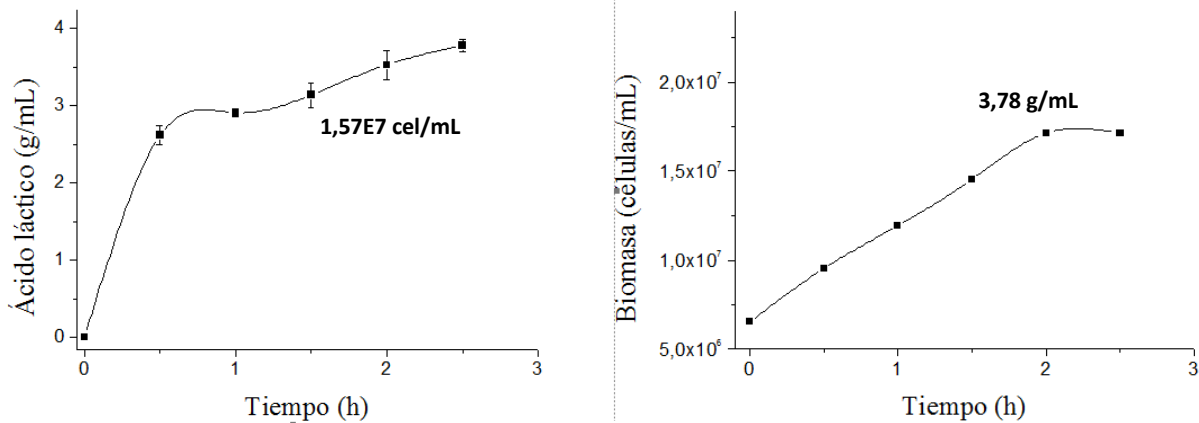


Figura 2. Crecimiento de la biomasa y producción de ácido láctico a las condiciones óptimas de fermentación (pH inicial 5,2 y temperatura de fermentación 55 °C) del suero de leche estandarizado utilizando *Lactobacillus bulgaricus*.

Rendimientos de biomasa y ácido láctico

Tabla 2. Coeficientes de rendimiento del proceso de producción de ácido láctico a partir del lactosuero

Coeficiente de rendimiento producto sustrato*	Coeficiente de rendimiento biomasa sustrato**
$Y_{P/S} = \frac{0,076 \text{ g Ácido láctico}}{9,2 \text{ g de Lactosa}} = 0,082 \text{ gg}^{-1}$	$Y_{P/S} = \frac{0,23 \text{ g Biomasa}}{9,2 \text{ g de Lactosa}} = 0,025 \text{ gg}^{-1}$

*Determinado experimentalmente **Determinado por balance estequiométrico

A partir de los cálculos estequiométricos, se determinó que a partir de una mol de lactosa se obtienen 0,31 moles de ácido láctico y 0,37 moles de *Lactobacillus bulgaricus*, con una producción de 10,7 moles de dióxido de carbono. Estos valores son más altos que los reportados por (Roy, 1986) y (Paternina, 2013) quienes obtuvieron 0,09 y 0,22 moles de ácido láctico por cada mol de lactosa respectivamente.

Sin embargo, los autores (Zayed, 1995) y (Panesar, 2010) reportan 0,79 y 1,69 moles de ácido láctico por cada mol de lactosa respectivamente, valores más altos que los encontrados en la presente investigación, cabe mencionar que estos autores utilizaron glucosa y trabajaron con una concentración mayor de lactosa en el suero de leche, por lo cual se asume que el enriquecimiento del medio (suero de leche) tiene influencia positiva sobre la producción de ácido láctico y crecimiento de la biomasa, variable que no fue estudiada en la presente investigación

Balance de Materia

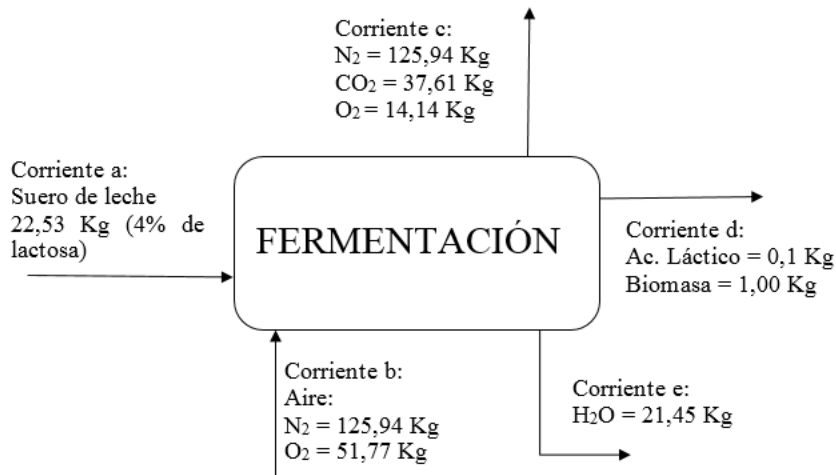


Figura 3. Diagrama de proceso del balance de materia del proceso de fermentación del suero de leche estandarizado con *Lactobacillus bulgaricus*

En el balance de materia de la figura 3. se observa las distintas entradas y salidas en el proceso de fermentación del suero de leche.

Se inició el experimento con 204,86 gramos de suero de leche estandarizados ($\rho = 1,024 \text{ g/mL}$) el cual contenía 9,2 gramos de lactosa, al proceso de fermentación ingresaron 1616,02 gramos de aire que contiene 470,8 gramos de oxígeno y 1145,22 gramos de nitrógeno. En nitrógeno del aire no reacciona en la fermentación por lo cual la entrada es igual a la salida. En el caso del oxígeno, 128,78 gramos fueron dosificados en exceso como se observa en la corriente de salida "c", junto a 342,02 gramos de dióxido de carbono. Al finalizar el proceso de fermentación se obtuvieron 0,76 gramos de ácido láctico (disueltos en 195,14 g de agua), crecieron 9,10 gramos de biomasa (*Lactobacillus bulgaricus*). Obteniendo un rendimiento del 8,3 % de ácido láctico a partir de la lactosa inicial.

Conclusiones

El proceso de producción de ácido láctico requiere un pre-tratamiento inicial donde se eliminen los sólidos que interfieren con el proceso fermentativo. La máxima producción de ácido láctico alcanzada en el proceso fermentativo fue de 3,78 g/L que se obtuvo utilizando lactosuero estandarizado y con *Lactobacillus bulgaricus* como agente biológico, las condiciones de fermentación fueron de 55 °C y un $\text{pH}_{\text{inicial}}$ de 5,2. El rendimiento de ácido láctico está muy ligado a la composición inicial del suero por lo que un estudio de la composición nutricional puede mejorar el proceso y sobre todo el rendimiento del producto.

Referencias Bibliográficas

1. Abdel-Rahman, M. A., Tashiro Yukihiro & Sonomoto Kenji (2011). "Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits." *Journal of biotechnology* 156(4): 286-301.
2. El Telégrafo (02 de Abril 2016). Condiciones Ambientales de Ecuador Favorecen la Producción de Leche Curda. Ecuador.
3. Garcia Garibay, M., Gómez Ruiz, L., & Bárzana, E. (1987). "Studies on the simultaneous production of single cell protein and polygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*." *Biotechnology letters*, 9(6), 411-416.

4. Hernández Rojas M. & Vélez Ruiz J. (2014). "Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales." Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México.
5. Londoño, M. (2006). "Aprovechamiento del Suero Acido de Queso Doble Crema para la Elaboración de Quesillo utilizando tres Métodos de Complementación de Acidez con tres Ácidos Orgánicos."
6. Paternina, G. A., Garcia, C., & Villalba, M. (2013). Producción de ácido láctico de lactosuero suplementado utilizando *Lactobacillus casei*. *INGRESAR A LA REVISTA*, 11(1), 136-143. *Perspectivas en Nutrición Humana*. No 16. Pág. 11—20.
7. Martínez, F. A. C., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., González, J. M. D., Converti, A., & de Souza Oliveira, R. P. (2013). Lactic acid properties, applications and production: a review. *Trends in food science & technology*, 30(1), 70-83.
8. Jakymec, M., Morán, H., Páez, G., Ferrer, J. R., Mármol, Z., & Ramones, E. (2001). "Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato." *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 11(1), 53-60
9. Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Knill, C. J., & Kosseva, M. (2010). Production of L (+) lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 53(1), 219-226.
10. Pozo García, M. D., Díaz Llorens, F. K., Fernández Procas, S., San José Marquino, A., Tellado del Pozo, A., & Vila Torrent, A. (2010). Planta de producción de ácido láctico.
11. Roy Denis, G. J., Le Duy Anh (1987). "Continuous production of lactic acid from whey permeate by free and calcium alginate entrapped *Lactobacillus helveticus*." *Journal of Dairy Science* 70(3): 506-513.
12. Venkatesh KV, O. M., Wankat PC (1993). "Kinetic model of growth and lactic acid production from lactose by *Lactobacillus bulgaricus*." *Process biochemistry* 28(4): 231-241.
13. Waldir, E., Rychtera, M., Melzoch, K., Quillama, E., & Egoavil, E. (2007). Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 271-276.
14. Winfried, O. V. R. (2007). *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry*, Springer.
15. Zayed G, W. J. (1995). "Batch and continuous production of lactic acid from salt whey using free and immobilized cultures of *Lactobacilli*." *Applied microbiology and biotechnology* 44(3): 362-366.

PRESENTACIONES

8 Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía-Horizonte 2035, Julio Pineda



ESTRATEGIA ECUATORIANA DE BIOECONOMÍA-HORIZONTE 2035

Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD

Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA)

cebaecuador@gmail.com, www.ceba.org.ec, Cel. 0995797813

Ibarra-Ecuador

18 de agosto de 2019

Desafíos Globales

(FAO, 2014)



Garantía de seguridad alimentaria



- Una de cada siete personas del planeta se va a dormir con hambre cada noche (<http://www.dupont.es/>).
- **Garantizar que hay suficiente comida saludable y nutritiva para las personas en todos los sitios es uno de los problemas más importantes que tiene que abordar el ser humano.**

29/06/2020

www.ceba.org.ec

3

Garantía energética



- En el 2035, la demanda global de energía aumentará en un 36 % (<http://www.dupont.es/>).

29/06/2020

www.ceba.org.ec

4

Garantizar la protección de la vida y el medio



- El crecimiento de la población mundial incrementa la presión para las personas y el medio ambiente.
- Uno de nuestros mayores retos en las décadas venideras será proteger de forma adecuada a la humanidad y al mundo que compartimos.

29/06/2020

www.ceba.org.ec

5

Evolución de las economías (ETCgroup, 2009)



Economía
Caza y recolección
(cientos de miles de años)



Economía Agraria
(10 000 años)



Economía Industrial
To: Gran Bretaña, 1870
Tf: EE.UU, 1950



Economía Información
Td = 75-80 años)
Finaliza: 2020



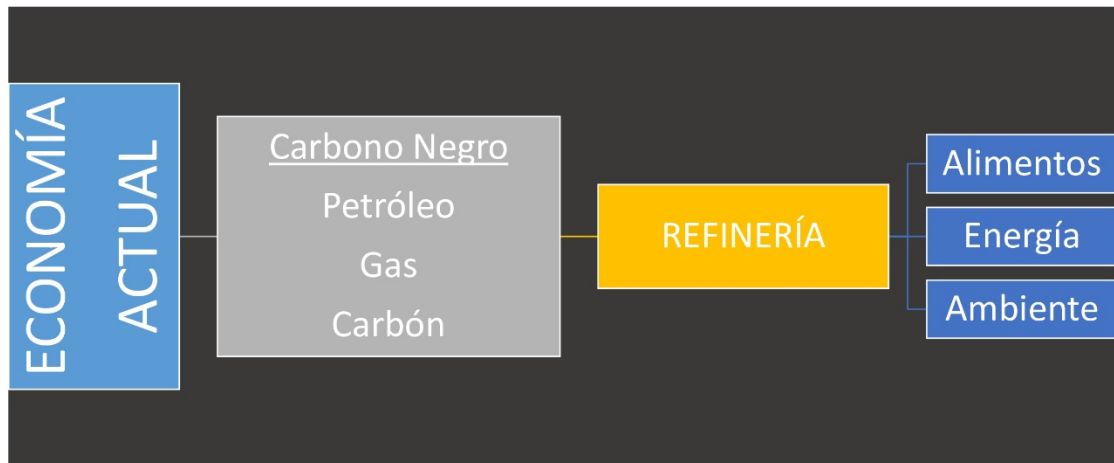
BIOECONOMÍA
Inicia: 2020

29/6/2020

www.ceba.org.ec

6

Bases de la economía mundial

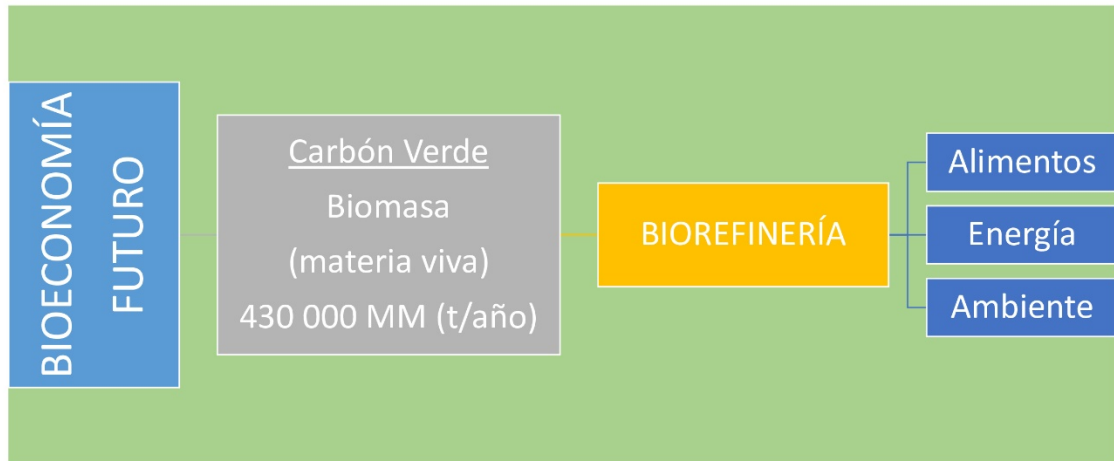


29/6/2020

www.ceba.org.ec

7

Bases de la Bioeconomía

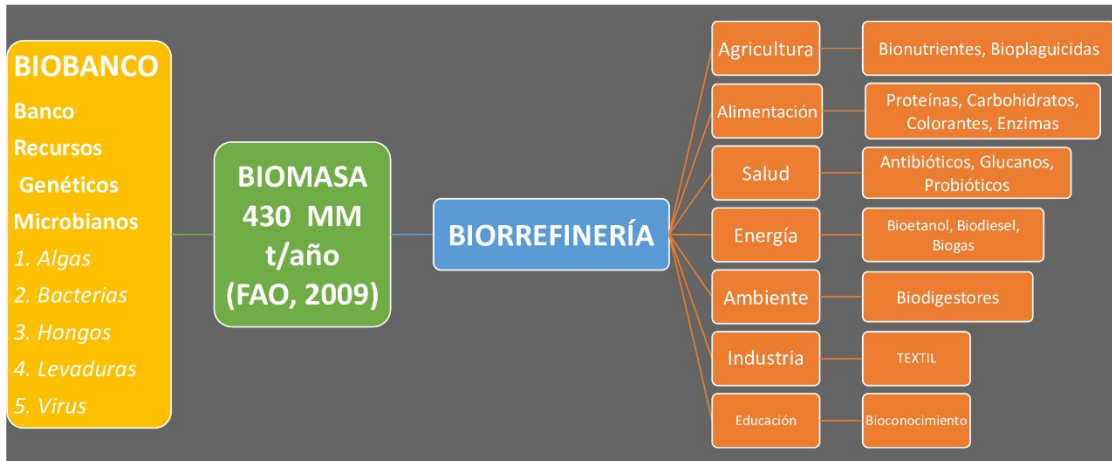


29/6/2020

www.ceba.org.ec

8

Pilares de la BIOECONOMÍA

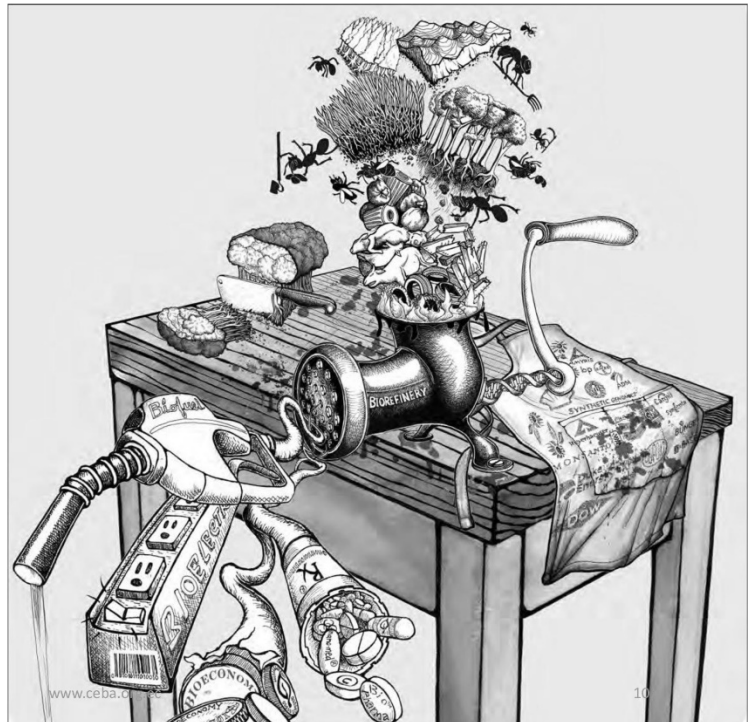


29/6/2020

www.ceba.org.ec

9

La Biorrefinería

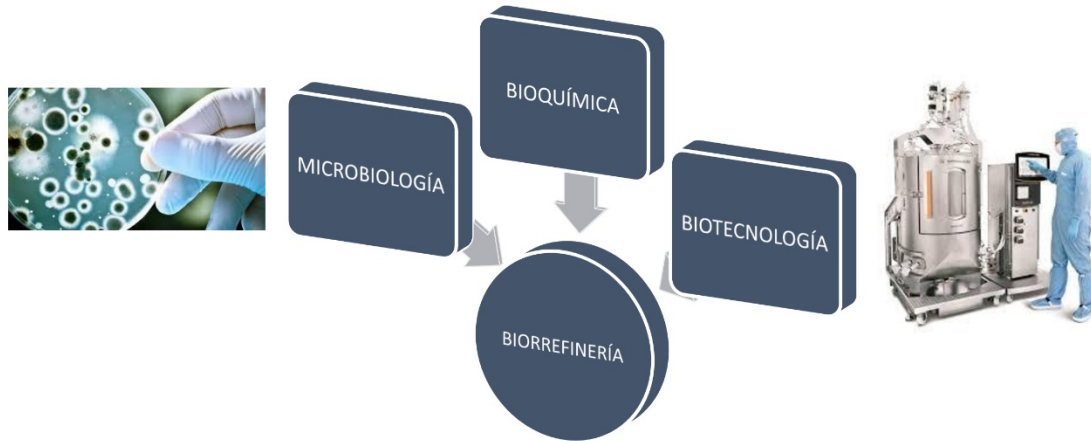
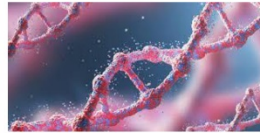


29/6/2020

www.ceba.org.ec

10

Ciencias de la Biorrefinería



29/6/2020

www.ceba.org.ec

11

QUÉ ES LA BIOECONOMÍA?

29/6/2020

www.ceba.org.ec

12

Introducción (Río 1992 a Río 2012)

- Hacia fines del milenio comenzó a tomar forma la visión de un **futuro** pospetróleo **amigable con el medio ambiente**. La producción industrial dependería de materias primas biológicas, transformadas mediante plataformas de bioingeniería de alta tecnología: la captura y conversión de materia viva (o recientemente viva), denominada biomasa —alimentos y cultivos fibrosos, hierbas, residuos forestales, oleaginosos, algas, etc.— en químicos, plásticos, medicamentos y energía.
- Esta naciente economía de base biológica adquirió rápidamente un “barniz verde” y prometió resolver el problema del pico petrolero, frenar el cambio climático y marcar el comienzo de una era de desarrollo sostenible. **Con motivo de la Cumbre de la Tierra (Río+20) de junio de 2012, la noción de una “gran transformación tecnológica verde” que haga posible una “economía verde” está siendo aceptada en forma amplia, aunque no universal** (Naciones Unidas, Estudio Económico y Social Mundial 2011)

29/6/2020

www.ceba.org.ec

13

¿Qué es la Bioeconomía?

- La bioeconomía describe la idea de un orden industrial basado en materiales, procesos y servicios **biológicos**. Con enfoque de aprovechamiento integral de las biomasa a través de **biorefinerías**.

29/06/2020

www.ceba.org.ec

14

Bioeconomía también conocida como..

- | | |
|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. OCDE : Economía de base biológica 2. Knowledge Based BioEconomy, KBBE (Unión Europea): Bioeconomía del conocimiento 3. Foro Económico Mundial :Industria de la biorrefinación industrial 4. Organización de la Industria de la Biotecnología: Biotecnología blanca o Biotecnología industrial | <ol style="list-style-type: none"> 1. PNUMA: Economía verde / Servicios de la Biodiversidad 2. Instituto para la Autonomía Local: Economía de los carbohidratos 3. Consejo para la Investigación y Desarrollo de la Biomasa, del gobierno de Estados Unidos: La revolución bioeconómica |
|---|---|

29/06/2020

www.ceba.org.ec

15

Actores de la bioeconomía global



29/06/2020

www.ceba.org.ec

16

Cual es el desafío?

29/6/2020

www.ceba.org.ec

17

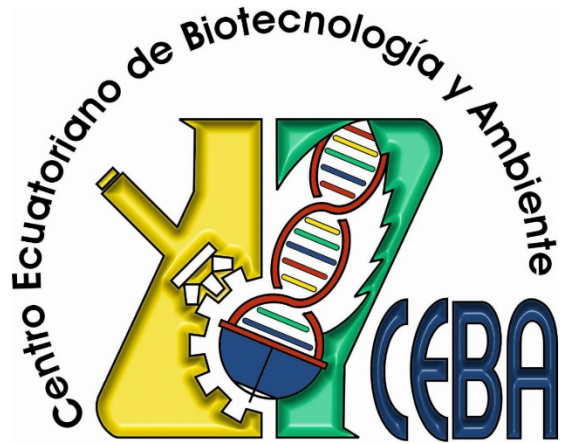
El Desafío?

- 1. Cómo convertir la Megabiodiversidad ecuatoriana en Riqueza Social?**
2. Cómo convertir la biodiversidad en una bioindustria?

29/06/2020

www.ceba.org.ec

18



Actor local

ESTRATEGIA ECUATORIANA DE BIOECONOMÍA-HORIZONTE 2035

29/6/2020

www.ceba.org.ec

19

Desafíos locales

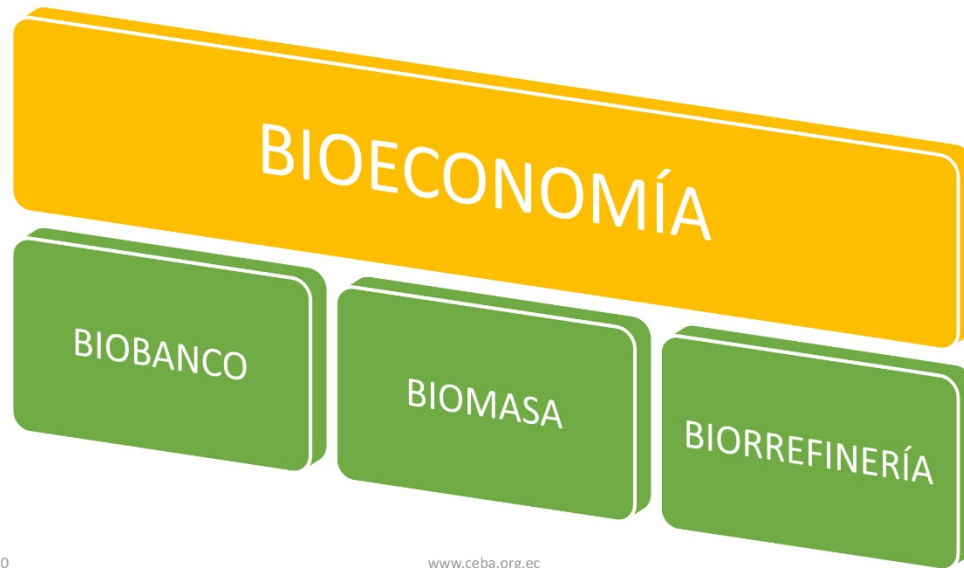


29/6/2020

www.ceba.org.ec

20

Pilares



29/6/2020

www.ceba.org.ec

21

PROGRAMA 1. BIOBANCO

RECURSOS GENÉTICOS MICROBIANOS

29/6/2020

www.ceba.org.ec

22

PROGRAMA 1. BIOBANCO

Banco de recursos genéticos microbianos



29/6/2020

www.ceba.org.ec

23

Localización de la especie potencial (*Pleurostus spp.*)

Comunidad de Getsemaní/ Parroquia de Lita, Ibarra



29/06/2020

www.ceba.org.ec

Especies potenciales

Agaricus Brasiliensis



29/06/2020

www.ceba.org.ec

Cordyceps sinensis



25

Especies potenciales

Ganoderma lucidum



29/06/2020

www.ceba.org.ec

Grifola frondosa



26

Especies potenciales

Inonotus obliquus



29/06/2020

www.ceba.org.ec

Lent



27

Especies potenciales

Polyporus umbellatus



29/06/2020

www.ceba.org.ec

Pleurotus ostreatus



28

BIOBANCO



29/6/2020

www.ceba.org.ec



29

PROGRAMA 2. BIOMASAS

POTENCIALES

29/6/2020

www.ceba.org.ec

30

PROGRAMA 2. BIOMASAS DISPONIBLES

Banano



29/6/2020

Caña



www.ceba.org.ec

31

PROGRAMA 2. BIOMASAS DISPONIBLES

Café



29/6/2020

Cacao



www.ceba.org.ec

32

PROGRAMA 2. BIOMASAS DISPONIBLES

Cebada



29/6/2020

Aserrín



www.ceba.org.ec

33

PROGRAMA 2. BIOMASAS DISPONIBLES

RSU



29/6/2020

Lactosuero



www.ceba.org.ec

34

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

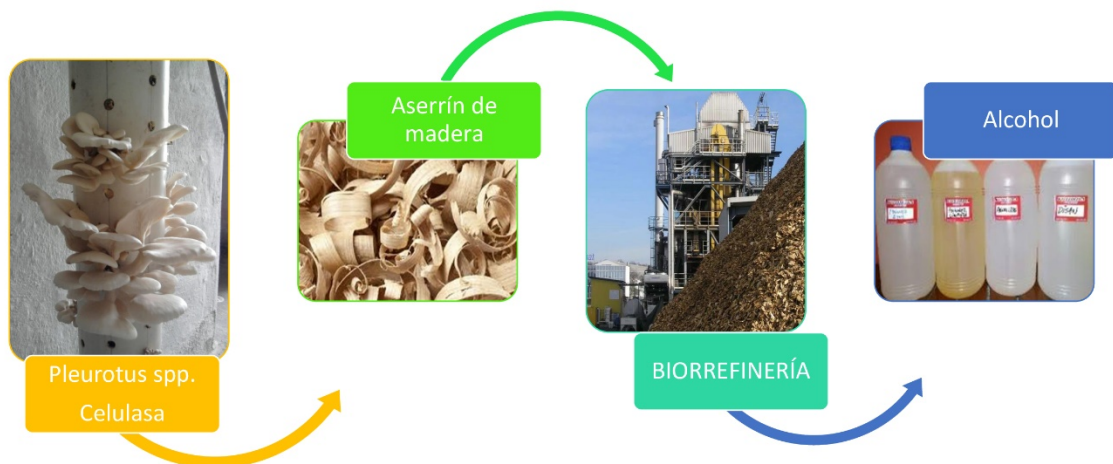
PATENTES

29/6/2020

www.ceba.org.ec

35

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS Alcohol celulósico



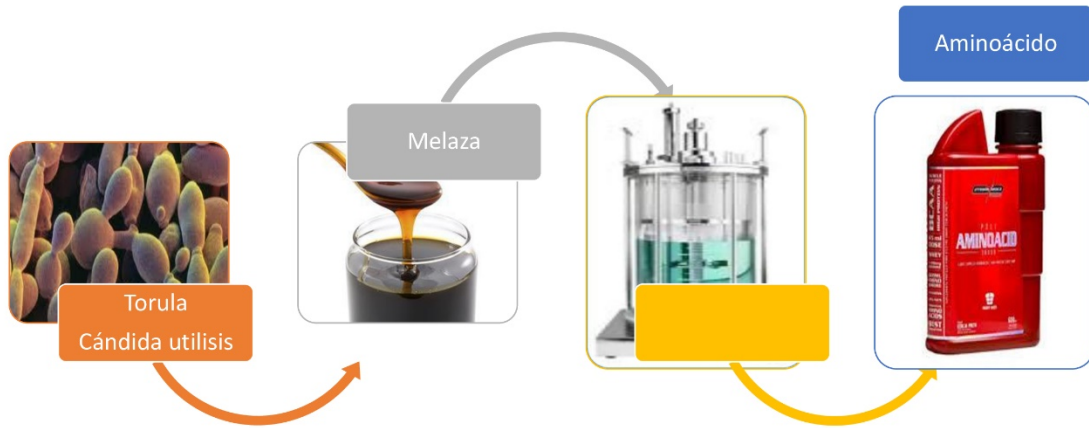
29/6/2020

www.ceba.org.ec

36

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Aminoácidos microbianos



29/6/2020

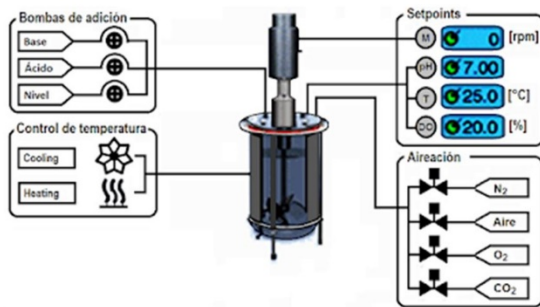
www.ceba.org.ec

37

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Proteína unicelular (SCP)

Torula (*Candida utilis*)



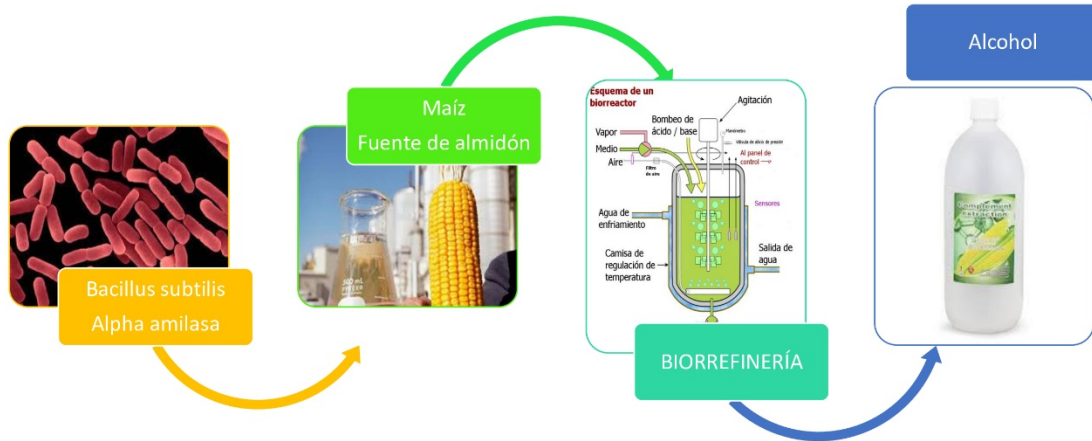
29/6/2020

www.ceba.org.ec

38

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Alcohol de maíz



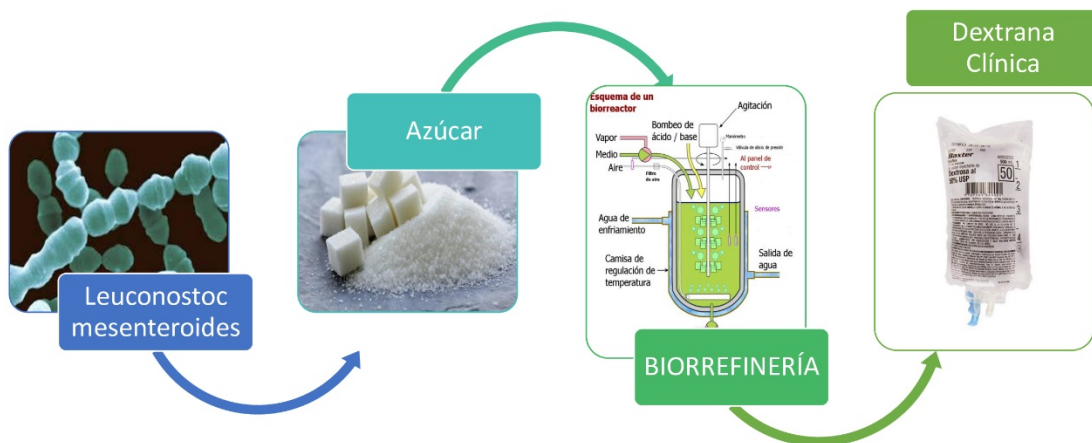
29/6/2020

www.ceba.org.ec

39

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Dextrana clínica



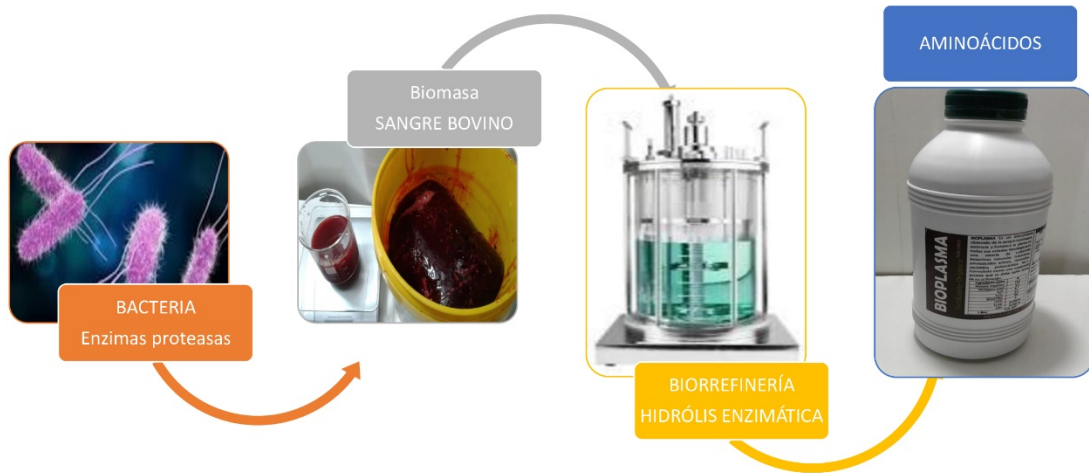
29/6/2020

www.ceba.org.ec

40

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Aminoácidos de sangre bovina



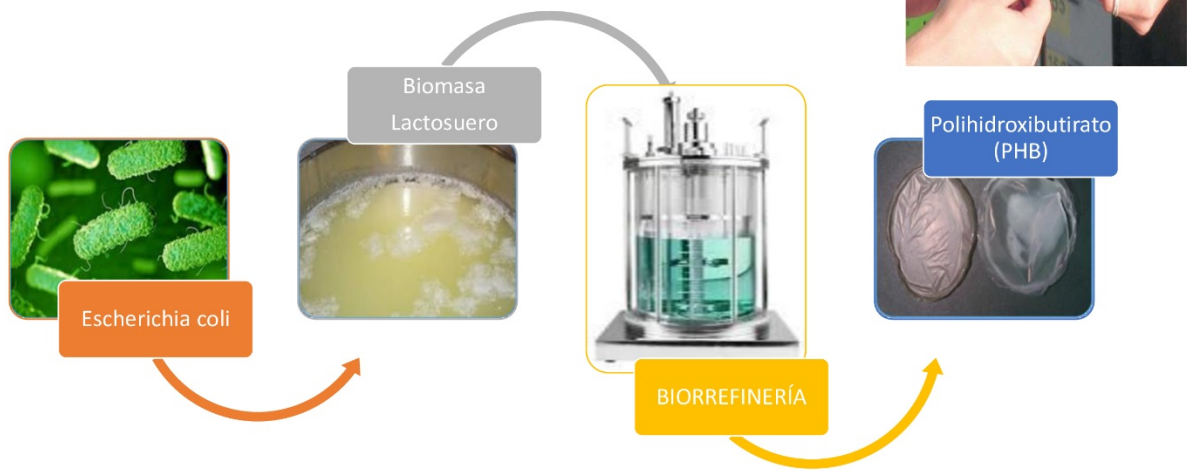
29/6/2020

www.ceba.org.ec

41

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Bioplástico de lactosuero



29/6/2020

www.ceba.org.ec

42

PROGRAMA 3. BIORREFINERÍAS

Programa industrialización derivados lactosuero



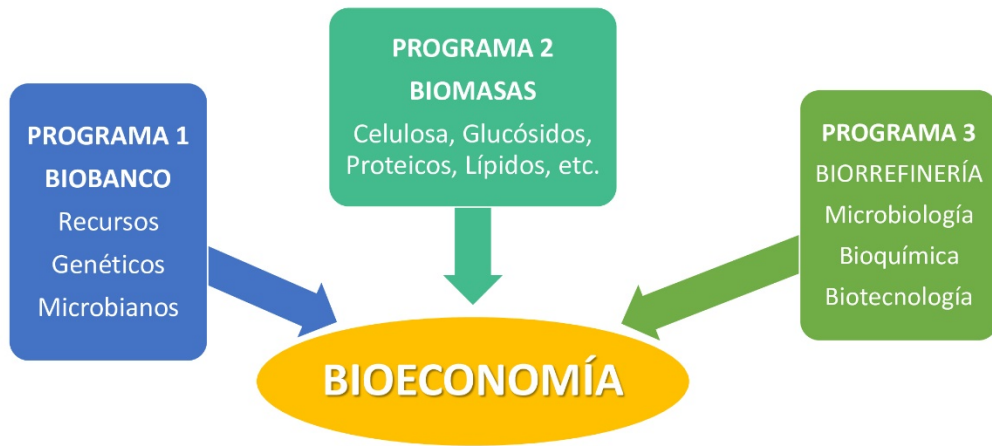
29/6/2020

www.ceba.org.ec

43

BIOECONOMÍA

Pilares

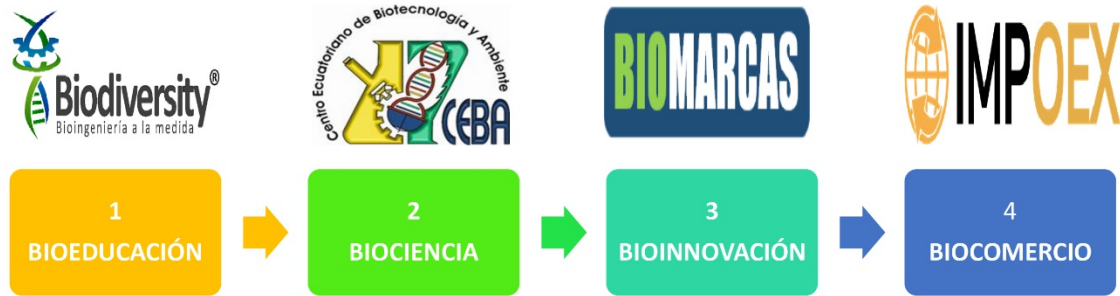


29/6/2020

www.ceba.org.ec

44

CEBA. Estrategia 4B Aliados estrategicos



29/6/2020

www.ceba.org.ec

45

BIOEDUCACIÓN.CEBA ESCUELA DE BIOAGRICULTURA



29/6/2020

www.ceba.org.ec

46

BIOCIENCIA. CEBA REVISTA BIORREFINERÍA

<http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria>

www.ceba.org.ec Vol. 2 Nº. 3 Año: 2019 ISSN: 2602-8530

www.ceba.org.ec Vol. 1 Nº. 1 Año: 2018 ISSN: 2602-8530

www.ceba.org.ec Vol. 1 Nº. 1 Año: 2018 ISSN: 2602-8530

Biorrefinería



29/6/2020

Biorrefinería



www.ceba.org.ec

Biorrefinería



BIOINNOVACIÓN.CEBA BIOEMPRESAS



29/6/2020



www.ceba.org.ec



48

BIOINNOVACIÓN.CEBA BIOEMPRESAS

BIOINSUMOS AGRÍCOLAS



29/6/2020

www.ceba.org.ec

49

BIOALIMENTOS



BIOCOMERCIO.CEBA



29/6/2020

www.ceba.org.ec



50

9 Valoración del lactosuero-oportunidades para empresas innovadoras y sustentables. Rodrigo Gallegos

Rodrigo Gallegos Riofrio
 Director Ejecutivo
 CENTRO DE LA INDUSTRIA LÁCTEA - CIL
 e-mail: rgallegos@cilecuador.org

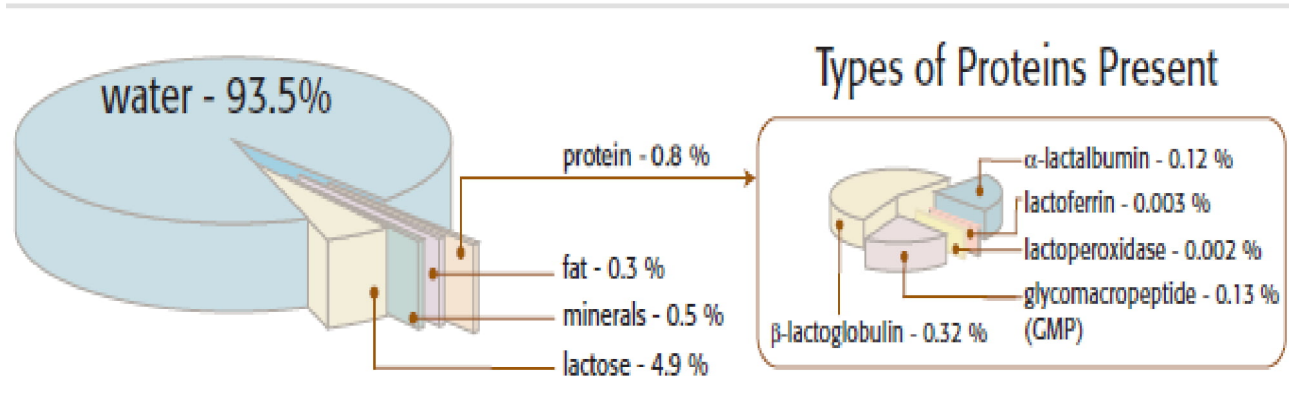


VALORIZACIÓN DEL LACTOSUERO - Economía Circular -

- RODRIGO GALLEGOS R.
- Director Ejecutivo
- Centro de la Industria Láctea - CIL Ecuador
- Agosto / 2019

SUERO

Fracción de la leche que no precipita por la acción del cuajo o ácidos, durante el proceso de elaboración de quesos u otros derivados



PROTEINA DE SUERO DE LECHE

β -lactoglobulina

- La β -lactoglobulina es la proteína más abundante en el lactosuero bovino, en el que alcanza concentraciones de 2 a 4 mg/ml, representando alrededor del 50 a 55% de las proteínas del lactosuero.

α -lactalbúmina

- La α -lactalbúmina es la segunda proteína en concentración en el lactosuero de vaca (entre 1 y 1,5 mg /ml), constituyendo aproximadamente 20 a 25% de la proteína de suero

Inmunoglobulinas

- Son producidas por el sistema inmunológico para luchar contra ciertos antígenos. Las inmunoglobulinas proporcionan beneficios para mejorar la inmunidad a los niños y otros.
- Constituyen aproximadamente el 10 a 15% de la proteína de suero.

Otras

- Albúmina de suero bovino (10-15%), lactoferrina (1-2%), lactoperoxidasa (0.5%), lisozima (menos del 0.1%).

Aminoácidos Presentes en el Suero de Leche

- Base fundamental en la composición de las proteínas
- Cerca de **20 aminoácidos** en forma de proteínas en los alimentos:

Alanina	Lisina
Arginina	Metionina
Acido Aspartico	Fenilalanina
Cisteina	Prolina
Acido Glutamico	Serina
Glicina	Treonina
Histidina	Triptofano
Isoleucina	Tirosina
Leucina	Valina

- **Aminoácidos esenciales no pueden ser sintetizados por el cuerpo y deben ser suplementados a través de la dieta.**

COMPOSICIÓN EN AMINOÁCIDOS ESENCIALES DE DIFERENTES PROTEÍNAS (g/ 100g proteína)

Amino ácidos	Proteínas			
	Suero	Albumina de huevo	Leche	Soya
Isoleucina	6.55	6.45	6.1	5.15
Leucina	14	8.3	10	7.85
Lisina	10.9	7.05	7.9	6.2
Metionina	2.35	3.4	2.6	1.35
Cistina	3.15	2.25	1	1.35
Fenilalanina	4.05	5.8	4.8	5.1
Tirosina	4.8	4.05	5.2	3.4
Treonina	6.7	5.15	4.7	4.1
Triptófano	3.2	1.5	1.5	1.25
Valina	6.85	7.15	6.8	5.3
Total	62.55	51.1	50.6	41.5

Cada 1,000 litros de lactosuero

aguas negras

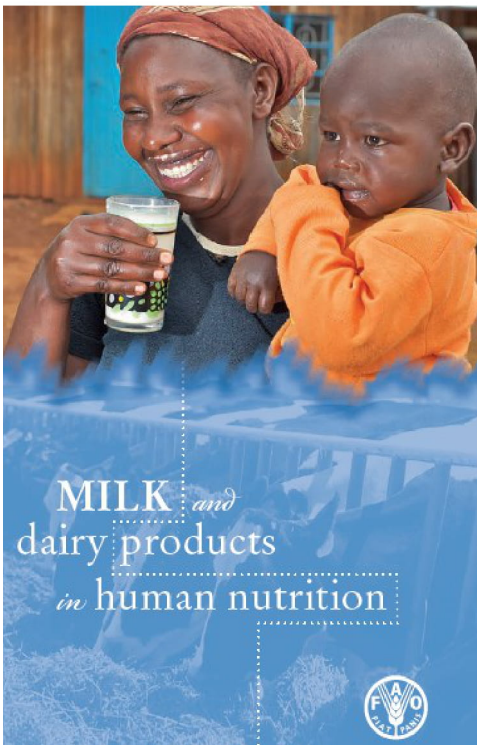
450 personas



Contaminación por suero lácteo



Esta foto de Autor desconocido está bajo licencia CC BY



3.3.7 Whey products

Whey, fresh (0903): The liquid part of the milk that remains after the separation of curd in cheese making. Its main food use is in the preparation of whey cheese, whey drinks and fermented whey drinks. The main industrial uses are in the manufacture of lactose, whey paste and dried whey.

Chapter 3 – Milk and dairy product composition

Whey is rich in whey proteins, water-soluble vitamins and lactose. Two types of whey exist: acid whey, obtained during the production of acid-coagulated cheeses such as cottage cheese, and sweet whey, from the manufacture of rennet-coagulated cheese. Acid whey contains twice as much calcium as sweet whey.

SUERO DE LECHE: CLAVE EN LA INNOVACIÓN DE ALIMENTOS



Problema estructural del sector: esquema de precios rígido y alejado de la realidad



Suero: coproducto con +- 50 por ciento de nutrientes de la leche (proteínas solubles, lactosa, vitaminas y sales minerales)



RESERVA ALIMENTARIA DE ALTO VALOR NUTRICIONAL

PACTO POR LA ECONOMÍA CIRCULAR



Aprovechamiento e industrialización de residuos



Ecodiseño



Vinculación con la Academia

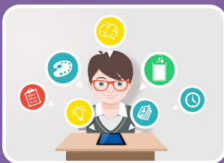
PACTO POR LA ECONOMÍA CIRCULAR



Producción limpia

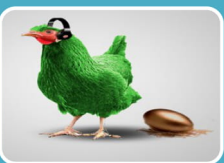


Infraestructura sostenible y resiliente



Educación

PACTO POR LA ECONOMÍA CIRCULAR



Negocios sustentables



Sustitución progresiva



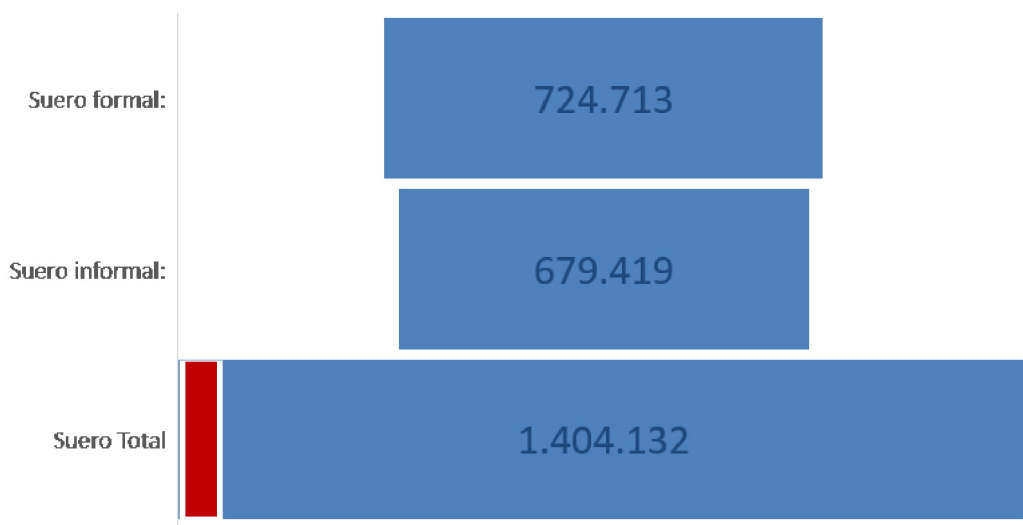
Indicadores

La Cadena del Suero en Ecuador

Se transforma más de **1.6 millones de litros de leche** en queso cada día; es decir, entre **1 y 1.4 millones de litros de suero** de leche por día, que proviene de queseras, medianas y pequeñas.



Suero en Ecuador



- * Semana Santa
- * Ingreso a las escuelas - período Costa
- * **Crecimiento de la Informalidad**

NEGOCIOS CIRCULARES



Circular Business Model Canvas - CBMC



“Utilización del valor económico retenido en los productos después del uso en la producción de nuevas ofertas”



Creación de una empresa de procesamiento de lactosuero en Ecuador

CLAVE EN LA INNOVACIÓN DE ALIMENTOS

- I+D+I
- Crear nuevos productos de valor agregado

Consumo y/o fortificación de productos alimenticios de alto valor nutricional y funcional

Mercado global de USD \$ 6.000M
GRAN OPORTUNIDAD DE DESARROLLO PARA EL SECTOR

Opciones de Valorización



Sin procesos tecnológicos

Alimentación animal



Aplicando procesos industriales

Bebidas
Quesos
Evaporado
Secado
Membranas



Aplicando procesos biotecnológicos

Enzimáticos fermentativos



Valorización energética

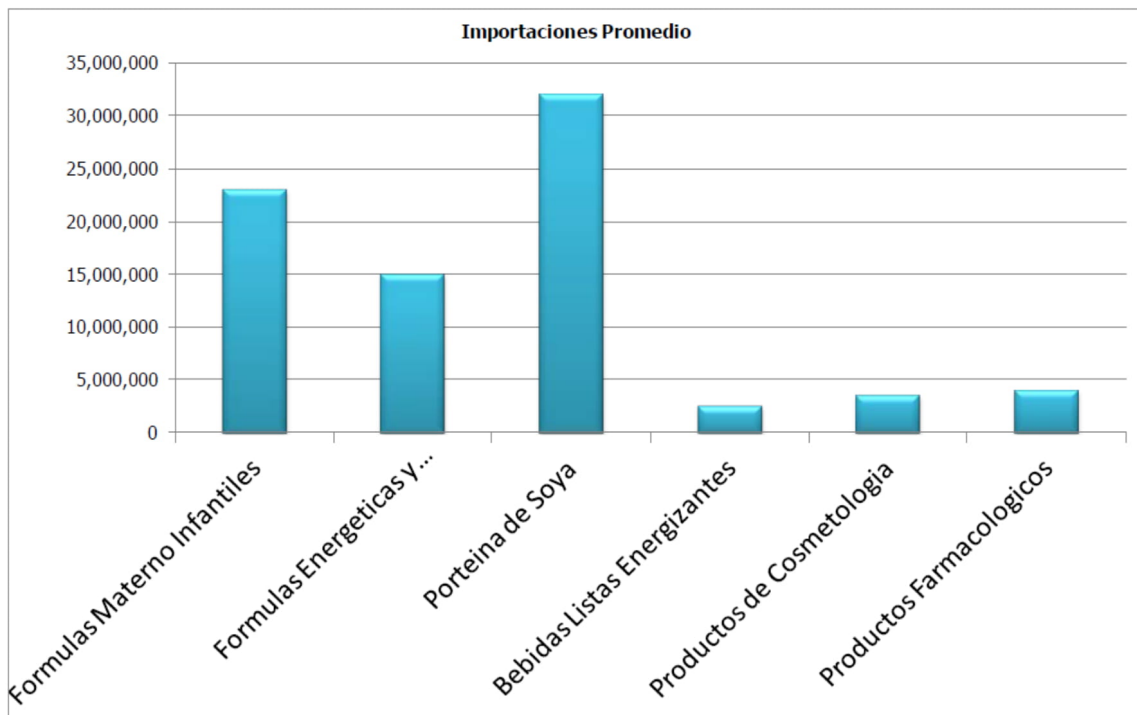
Fer. alcohólica
Dig. anaeróbica



NEGOCIOS CIRCULARES



Crear una Empresa de Procesamiento de Lactosuero en Ecuador!



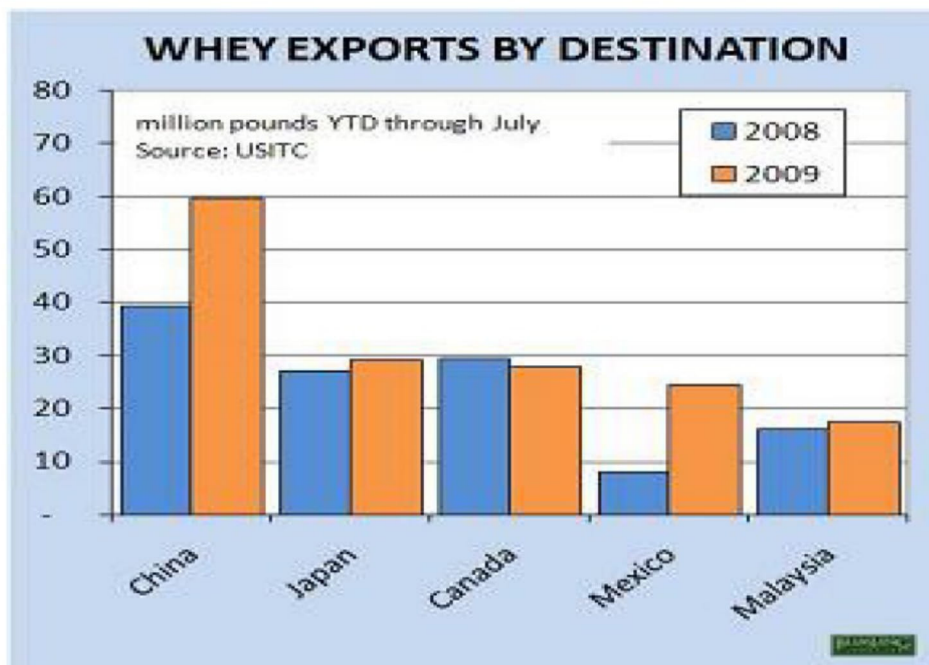
Crear una Empresa de Procesamiento de Lactosuero en Ecuador!

PRODUCTO	IMPORTACION PROMEDIO
FORMULAS MATERNO INFANTILES	\$ 23.000.000,00
FORMULAS ENERGETICAS Y ENERGIZANTES	\$ 15.000.000,00
PROTEINA DE SOYA	\$ 32.000.000,00
BEBIDAS LISTAS ENERGIZANTES	\$ 2.500.000,00
PRODUCTOS DE COSMETOLOGIA VINCULANTES	\$ 3.500.000,00
PROD. FARMACOLOGICOS DE NUTRICION	\$ 4.000.000,00
TOTAL	\$ 80.000.000,00

Se estima que valores semejantes, en relación a su tamaño poblacional, se manejan en países como Colombia, Perú y Venezuela, quienes también son altamente deficitarios en el abastecimiento de estos productos y no poseen de una industrialización del suero lácteo.

"Hay suficientes fundamentos teóricos-prácticos de mercado, que demuestran la necesidad de implementar el apoyo al crecimiento industrial del procesamiento de Proteína Aislada de Suero a nivel Nacional".

Crear una Empresa de Procesamiento de Lactosuero en Ecuador!



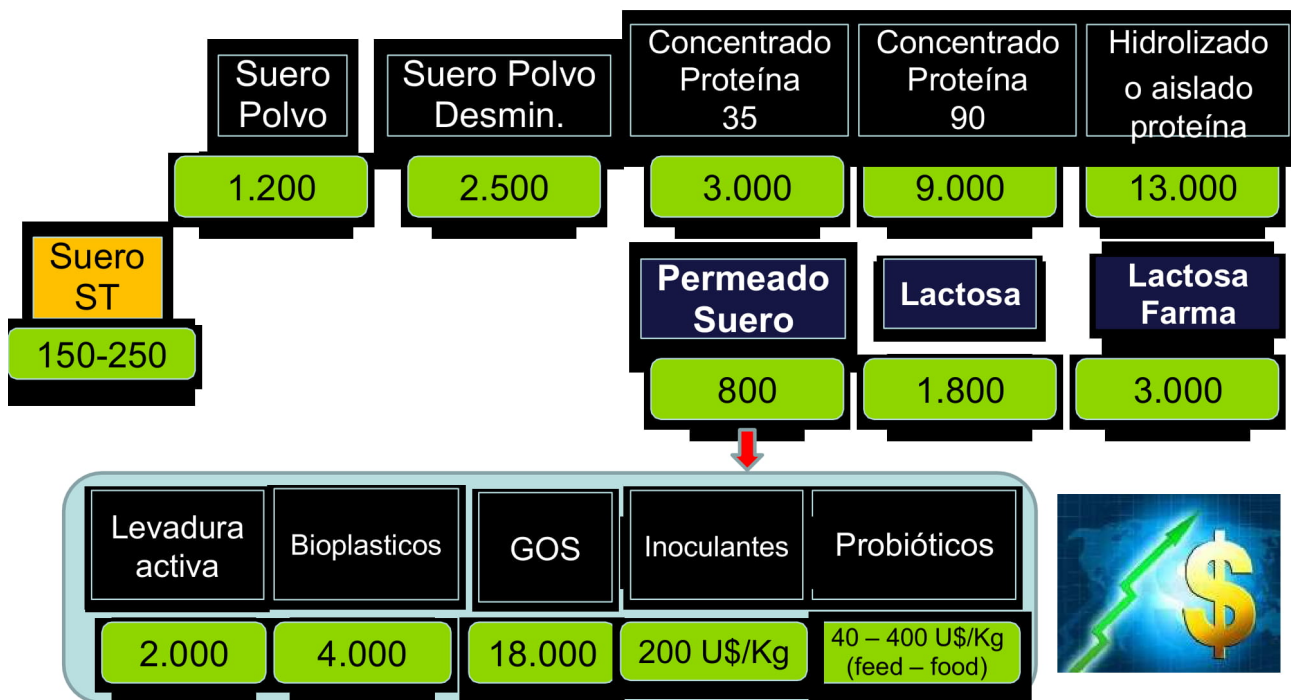
Crear una Empresa de Procesamiento de Lactosuero en Ecuador!

PRECIOS DE LA COMPETENCIA POR TIPO DE PRODUCTO

Empresa	Producto			
	Leche descremada en polvo	Leche entera en polvo	Mantequilla	Proteína de suero
Arla foods	3,68	3,77	11,3	10,30 (WPC 80%)
Bongrain	2,89	2,94	4,89	3,50 (WPC 50%)
Fonterra	3,40	3,60	3,80	4,21 (WPC 50%)
Glanbia Nutritionals	2,40	2,97	---	30,12 (WPC 90%)
Euroserum	---	---	---	44,12 (WPC 90%, desmineralizado)

Datos expresados en dólares por kilogramo (USD/Kg)
WPC= concentrado de proteína de suero, el porcentaje indica la concentración del mismo.

Valor Agregado al Lactosuero U\$\$/tn





**¡MUCHAS
GRACIAS!**

10 Economía circular. Oportunidades de desarrollo para el Ecuador.

CEMDES

Jimmy Andrade
Director Ejecutivo
CEMDES
jandrade@cemdes.org



Economía circular -oportunidades de desarrollo para el Ecuador-

I Congreso Internacional de Lactosuero

Miembros de la red mundial  wbcSD
global network

Consejo Empresario Mundial para el Desarrollo Sostenible (WBCSD)

		
200 empresas miembros a nivel mundial	USD9,8 trillones es la sumatoria de ingresos de sus miembros	19 millones son los empleados de las empresas miembros



Nuestra misión:

Acelerar el progreso hacia un mundo donde más compañías sostenibles sean **reconocidas y recompensadas**, y por lo tanto, más exitosas



Red global del WBCSD

Socios en Latinoamérica

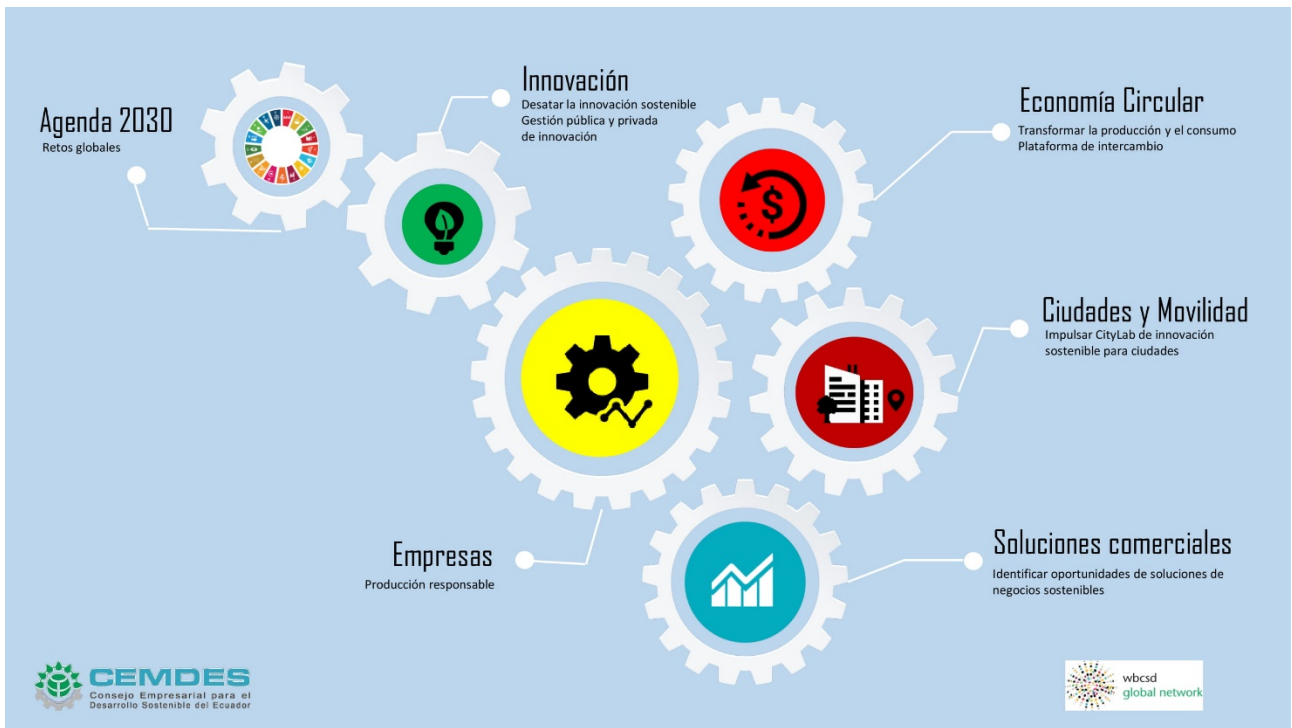
- 17 organizaciones locales actúan como foros en materia de desarrollo sostenible, ayudando a las empresas a comprender desafíos, y compartir soluciones.
- Más de 1300 compañías miembro en toda Latinoamérica



Propuesta de Valor 2019

Nos enfocamos en la realización de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) a través de 4 programas de trabajo para ayudar a las empresas a hacer más con menos, crear valor, prosperar y mejorar la condición humana.





Cómo lo hacemos?



Un planeta habitado por unos 9 mil millones de personas, viviendo bien con suficientes alimentos, agua potable, higiene, vivienda, movilidad, educación y atención sanitaria suficiente para garantizar el bienestar dentro de los límites de lo que el planeta puede suministrar y renovar a diario.



12.2 De aquí a 2030, lograr la gestión sostenible y el uso eficiente de los recursos naturales

12.3 De aquí a 2030, reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor y a nivel de los consumidores y reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro, incluidas las pérdidas posteriores a la cosecha

12.4 De aquí a 2020, lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente

12.5 De aquí a 2030, reducir considerablemente la generación de desechos mediante actividades de prevención, reducción, reciclado y reutilización



Qué es

La economía circular se aleja del modelo económico tradicional **“tomar-hacer-disponer”**



a uno que es regenerativo por diseño.



\$4,5 millones
de **millones**
oportunidades
de negocios



Perspectiva región LAC

Cifras clave

1 kg/día
de residuos genera en promedio cada habitante en la región

541.000 t/día
de residuos urbanos se generan en América Latina y el Caribe, cifra que al menos aumentará un **25%** para el año 2050

40 millones
de personas carecen de acceso a la recolección de residuos

145.000 t/día
de residuos se destinan todavía a basurales, incluyendo **17.000 t/día** de desechos plásticos.

50%
de los residuos urbanos generados son orgánicos

90%
de los residuos no se aprovechan

Fuente: Perspectivas GRU LAC 2017 - ONU

Perspectiva Ecuador

0,58 kg/día
De residuos genera en promedio Cada habitante en Ecuador

12.897 t/día
De residuos se generan en Ecuador

90,26%
De los residuos son no diferenciados y no se aprovechan

11.641 t/día
De residuos se destinan a basurales

9,74%
De residuos urbanos son diferenciados

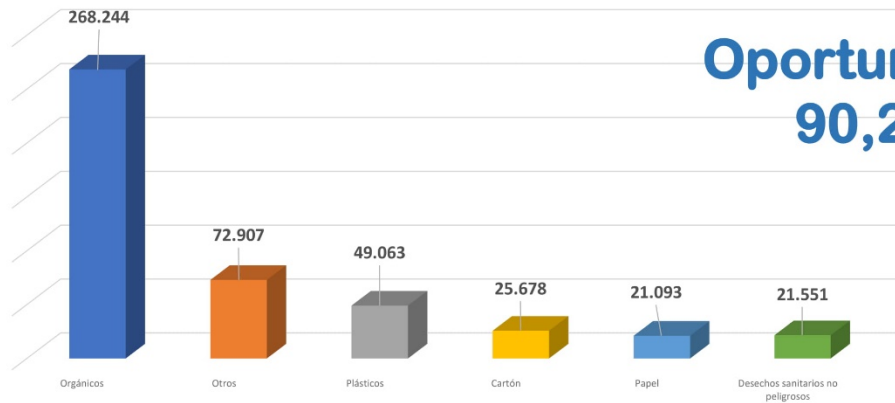
1.256 t/día
De residuos urbanos son aprovechados

53%
De residuos urbanos son orgánicos

47%
De residuos urbanos son inorgánicos

Fuente: INEC 2016

Caracterización del 9,74% de residuos área urbana Ton/año 2016



**Oportunidad 1
90,26%**

Otros: madera, vidrio, chatarra, caucho, textil, lámparas/focos ahorradores, pilas, metal

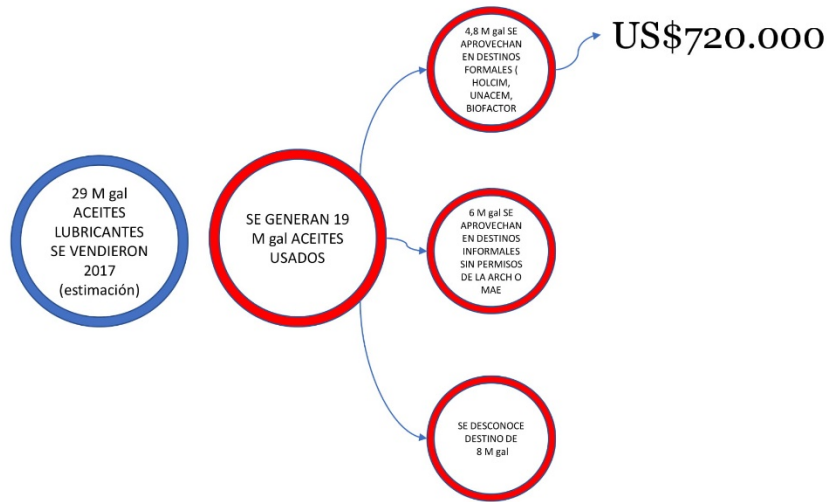
Fuente: INEC 2016

Oportunidad 2 cinco modelos de negocios EC

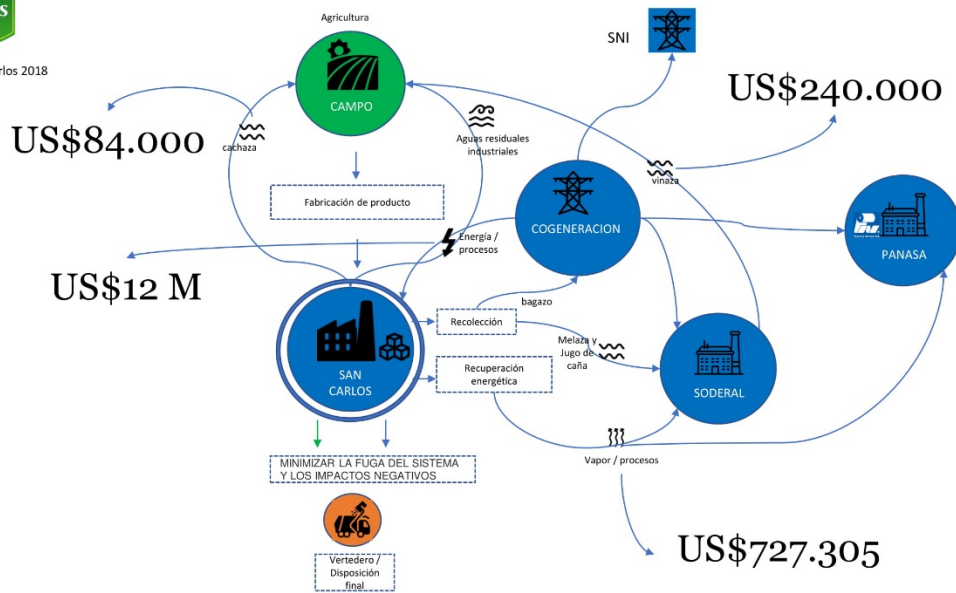




Fuente: APEL 2018



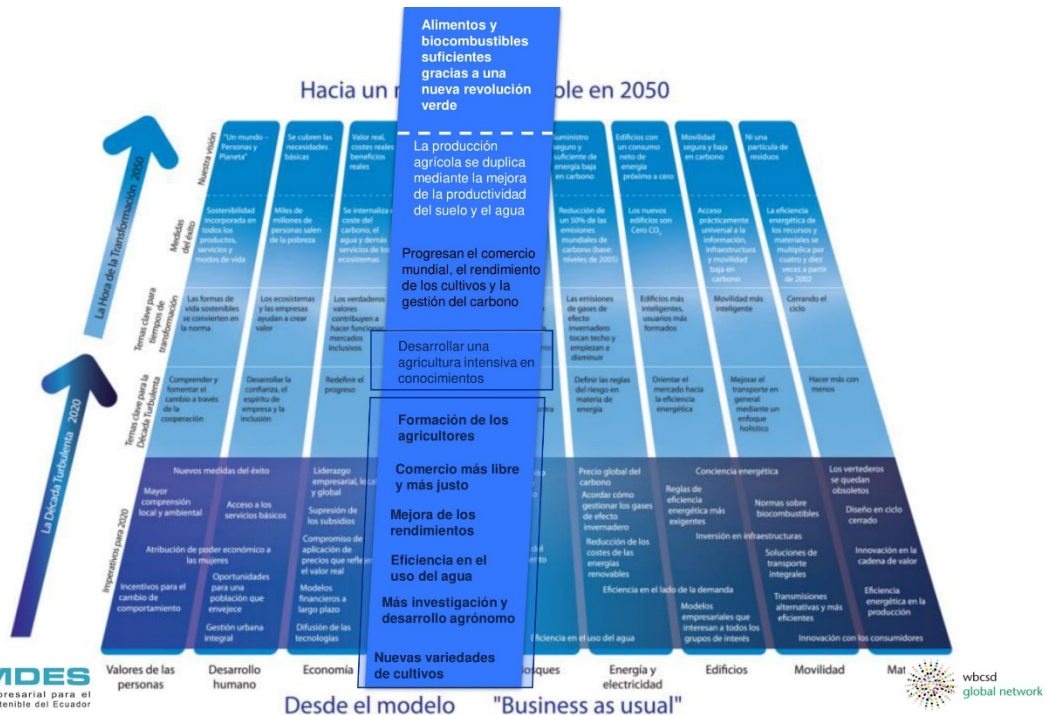
Fuente: San Carlos 2018





Reforma de los Sistemas de Producción de Alimentos

Alcanzar una alimentación sana y agradable para todos, producido de manera responsable dentro de los límites del planeta



Tenemos que actuar conforme nuestro sistema alimentario actual está llevando a las personas enfermas y un planeta degradado



amenazas a las personas, las sociedades y el planeta

Al menos **1 de cada 5 niños menores de cinco años tiene baja talla** para la edad es decir **desnutrición crónica**.

El **12% de los niños tiene desnutrición global**, es decir bajo peso para la edad.

El **16% nacen con bajo peso**.

Seis de cada 10 embarazadas y 7 de cada 10 menores de 1 año sufren de anemia por deficiencia de hierro. Estas cifras casi se duplican en poblaciones rurales e indígenas.

5'558.185 ecuatorianos de entre 19 y 59 años sufren de sobrepeso u obesidad.

25% de las tierras globales altamente degradadas

Un **29,9%** de menores de 5 a 11 años está con sobrepeso y el **26%** de adolescentes entre 12 y 19 años también.

La pobreza a nivel **rural varió de 40,9% en 2016 a 41,0% en 2017**.

La **pobreza urbana** en junio de 2017 fue de **14,6%**, mientras que en junio de 2016 se ubicó en **15,6%**.

La **pobreza por ingresos** a nivel nacional en junio de 2017 se ubicó en **23,1%** en comparación al **23,7%** de junio de 2016

En el ámbito **económico, social y productivo** el sector agropecuario es de vital importancia para el Ecuador, debido a su participación en el Producto Interno Bruto, que durante la última década fue del **8%**, con un crecimiento interanual del **4%** en el PIB agropecuario¹ INEC



Ecuador

En Ecuador según el Ministerio del ambiente, se contabiliza alrededor **de 4.06 millones de toneladas métricas de desechos cada año a escala nacional**, de este total al menos el **60%** corresponde a desechos orgánicos (residuos de alimentos).



Reforma de los Sistemas de Producción de Alimentos

amenazas a las personas, las sociedades y el planeta

FReSH cataliza los cambios a lo largo del sistema de alimentos, teniendo en cuenta los patrones de alimentación locales, pero enfocándose en los siguientes flujos de trabajo y respaldar los ODS



Cemdes realizó un diagnóstico sobre desperdicios de alimentos en Guayaquil

ALIMENTOS QUE SE CONVIERTEN EN DESPERDICIOS



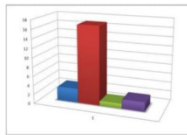
- HORTALIZAS
- PANES
- CARNES
- FRUTAS
- EMBUTIDOS
- COMIDA DEL PERSONAL
- ARROZ
- LÁCTEOS

CAUSAS DE GENERACIÓN DE DESPERDICIOS DE ALIMENTOS



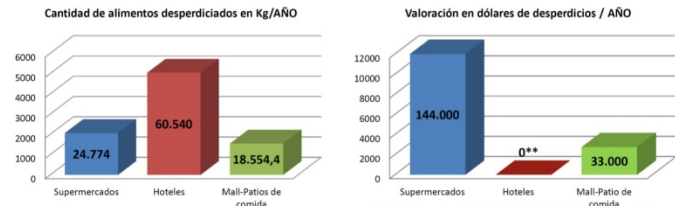
- MANIPULACIÓN DE PRODUCTOS POR CLIENTES
- CADUCIDAD DE PRODUCTOS POR BAJA CONSUMO
- EMPRESAS ROTOS POR CLIENTES
- CORTA FECHA DE CADUCIDAD
- BAJA ROTACIÓN DE VENTAS
- EXCESO AL SERVIR
- DESCOMPOSICIÓN DE ALIMENTOS
- CLIMA
- ALIMENTOS PERECIBLES

DISPOSICIÓN FINAL DE PRODUCTOS NO COMERCIALIZADOS



- RECOLECTOR DE BASURA
- ACCIÓN BENÉFICA
- VENTAS DE DESECHOS ORGÁNICOS
- VENTA DE ACEITES USADOS OTROS

DESPERDICIOS vs COSTOS / AÑO



**Para efectos de comparación con datos anteriores de esta investigación y en vista de que solo un hotel facilitó esta información, se omite el valor de Hoteles

¿QUÉ SE PUEDE HACER?

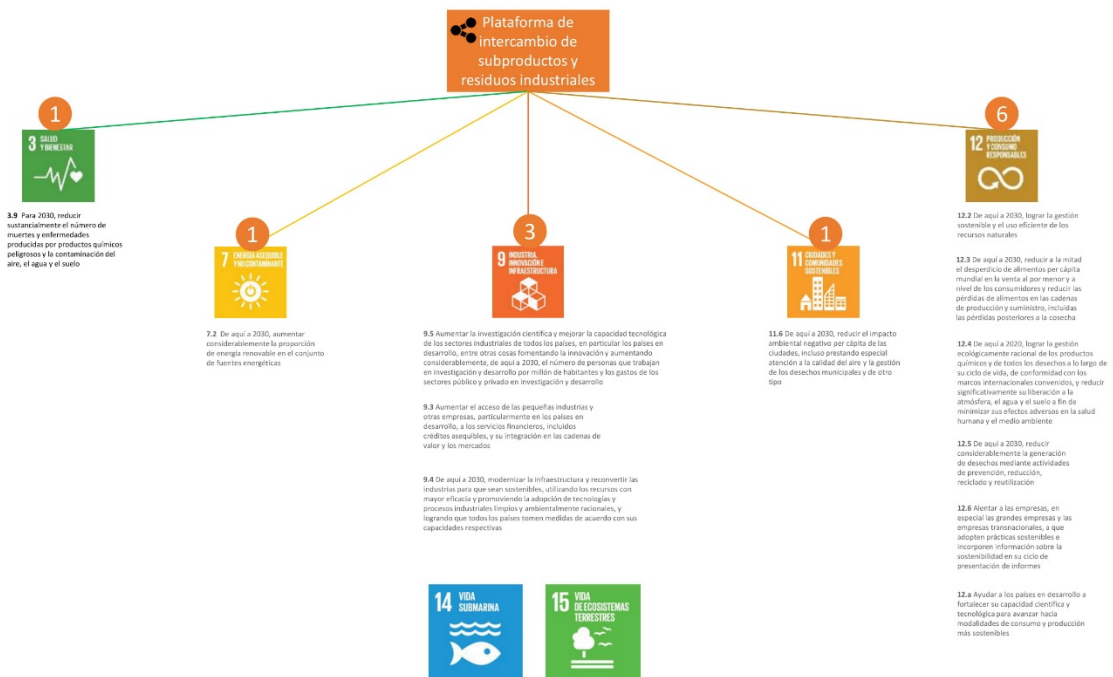
- Desarrollar políticas que limiten la generación y disposición final de los desperdicios.
- Establecer acuerdos de cooperación hacia un protocolo de donación de productos para el Banco de Alimentos Diakonia.
- Recopilar casos y Promover el intercambio de buenas prácticas.
- Promover campañas de información y sensibilización sobre el valor de los alimentos y la prevención/reducción de Desperdicios.
- Desarrollar programas de educación comunitaria sobre la importancia y cuidado de los alimentos.
- Desarrollar una propuesta de investigación de mayor alcance y proyección a nivel nacional que incluya las pérdidas

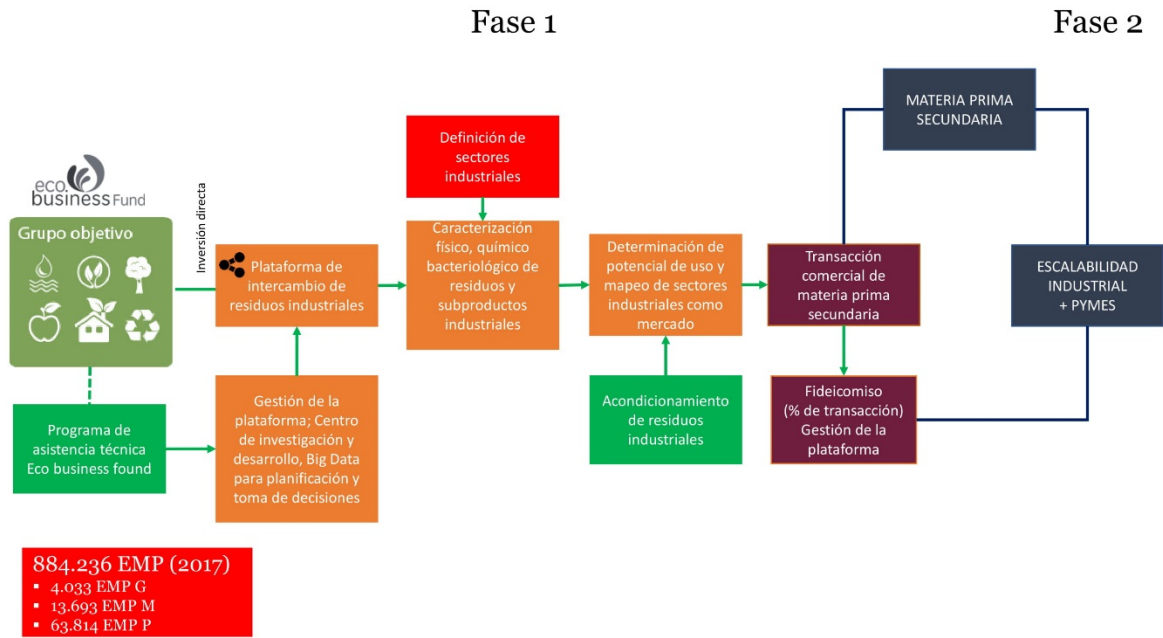
POTENCIAL BENEFICIARIO



53% BANCOS DE ALIMENTOS DEL MUNDO ESTAN EN AMÉRICA LATINA

La idea de los bancos de alimentos es a nivel mundial e inició en nuestro país en el 2011 bajo la dirección del Arzobispo de Guayaquil y un grupo de empresarios, el Banco de Alimentos Diakonia es una entidad sin fines de lucro que sirve como puente entre la abundancia y la carencia, logrando con ello ayudar a que las empresas tengan una verdadera responsabilidad social. Disponen de una bodega en el sector de la Prosperita que se abastece con las donaciones de las mayores empresas de alimentos del país, el 2013 realizó la primera colecta pública de alimentos que se repite cada año.





Contacto
 Jimmy Andrade
jandrade@cemdes.org

<http://ods.cemdes.org/>



11 HEIFER ECUADOR promueve la innovación y el emprendimiento rural Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición. Juan Pablo Escobar

Juan Pablo Escobar
PROJECT MANAGER HEIFER
Email: Juan.Escobar@heifer.org

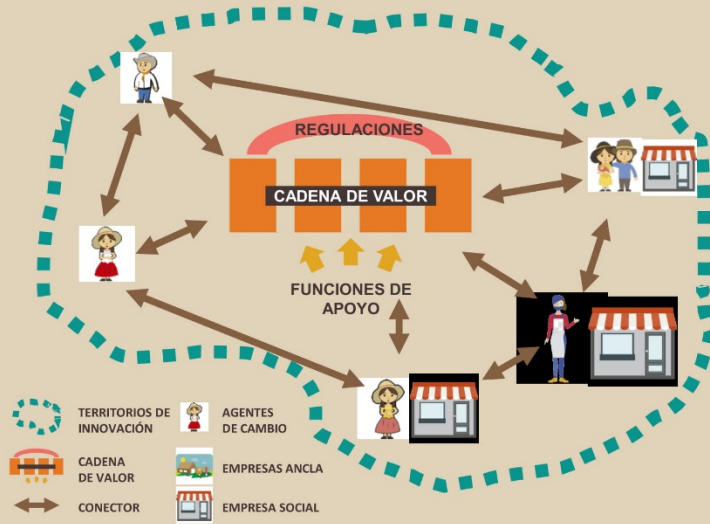


La Fundación Heifer Ecuador apoya la innovación y el emprendimiento rural

A través de la identificación de negocios
rentables que respetan el ambiente



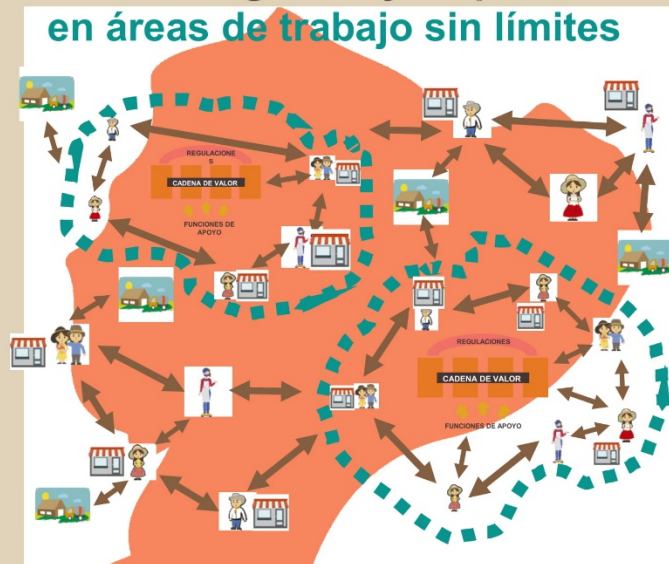
Construimos Territorios de Innovación



Construimos Territorios de Innovación

Que conectan negocios y emprendimientos

en áreas de trabajo sin límites



Territorios de innovación

Metodología



Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición

Prototipo

• 2.650 familias socias del negocio lechero.

• 8 empresas productoras de queso que no usan grandes cantidades del suero de leche.

• Familias de escasos recursos que tienen problemas de desnutrición por poco acceso a proteína animal.



- Aceptación de suplementos alimentarios.
- Demanda de productos de suero de unas 131 toneladas, equivalentes a \$610.000 en ventas al año.
- Las inversiones requeridas para suplementos alimenticios son factibles, rentables y fáciles de implementar.
- Interés en la compra del producto.
- Es financiable por banca pública y privada.



Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición

Prototipo

- La cartera de productos ofrecidos por las empresas asociativas es limitada (leche y queso).
- El suero se desperdicia.
- Es posible producir otros productos en las organizaciones campesinas

- El procesamiento del suero puede alcanzar un valor de \$60/kg.



- Se harán varios prototipos con diferentes presentaciones para evaluar sus costos de producción y características.
- Fórmulas para niños, mujeres embarazadas, deportistas.
- Se confirmará con un estudio de mercado, los costos y la aceptación del público.



Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición

Prototipo

Producir suplementos alimenticios con alto contenido proteico, deshidratando el suero permite:

- Diversificar la oferta de las empresas asociativas campesinas con un producto diferente y de alto valor.



- Los ingresos mensuales para las empresas podrían oscilar entre \$8.000 y \$40.000. (El costo de producción es menor al \$1/kg y su precio de venta supera a los \$5/kg, posiblemente alcanzando los \$25/kg).
- Con la maquinaria se pueden elaborar nuevos productos.



Prototipo: Nuevos productos para poblaciones con problemas de nutrición

Prototipo

- El suero en polvo de las 8 empresas asociativas se acopiará en un solo lugar.
- Los suplementos alimenticios tendrán el sabor, valor nutritivo, apariencia y empaquetamiento requeridos por el mercado.
- Se implementará el procesamiento mediante una inversión de impacto.



Las empresas asociativas:

- No desaprovecharán el suero
- No tendrán que gastar para transportar el suero líquido
- Diversifican sus productos
- Evitan la contaminación ambiental.

El mercado:

- Segmentos de población con bajos y medianos recursos accederán a suplementos que mejoran su nutrición.



Gracias





Heifer Ecuador promueve la innovación y el emprendimiento rural

A través de la identificación de negocios rentables que generan impactos positivos cuidando el ambiente.



12 Uso de lactosuero como fuente de proteína de alta calidad en un alimento fortificado contra la desnutrición infantil. Dr. Ullrich Stahl

Dr. Ullrich Stahl, Ph.D.

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.

Dr. Reynerio Álvarez-Borroto, Ph.D.

CENTRO ECUATORIANO DE BIOTECNOLOGÍA DEL AMBIENTE

Email: ustahl@uce.edu.ec, industahl@yahoo.de



Uso del lactosuero como fuente de proteína de alta calidad en un Alimento fortificado contra la desnutrición infantil

DR. ULLRICH STAHL, PH.D.

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.

DR. REYNERIO ÁLVAREZ-BORROTO, PH.D.

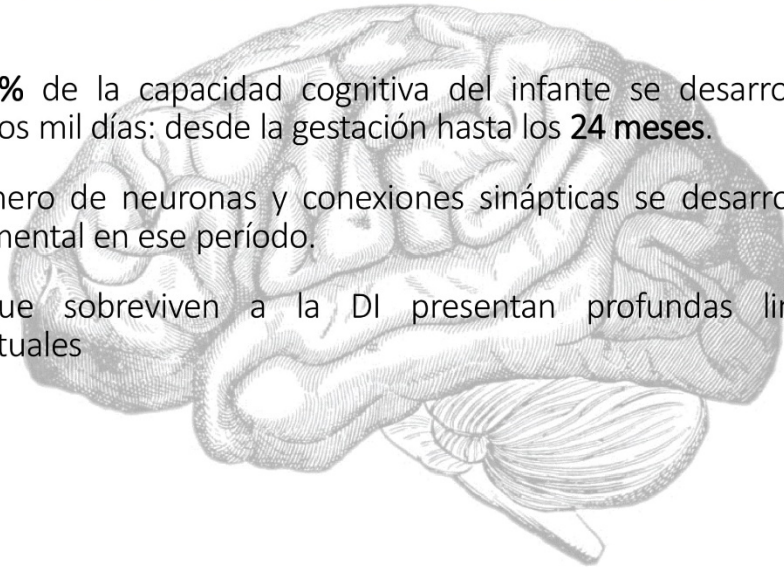
CENTRO ECUATORIANO DE BIOTECNOLOGÍA DEL AMBIENTE

LA DESNUTRICIÓN INFANTIL: UN PROBLEMA MUNDIAL

- ❖ La desnutrición infantil comprende: La emaciación, retraso del crecimiento e insuficiencia ponderal.
- ❖ 52 millones de niños menores de 5 años en el mundo presentan emaciación y 155 millones sufren retraso del crecimiento;
- ❖ El 45 % de las muertes de menores de 5 años se asocia a la desnutrición infantil (DI)(OMS, 2018)

EFFECTO DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL: LO QUE NO SE VE

- ❖ El **80 %** de la capacidad cognitiva del infante se desarrolla en los primeros mil días: desde la gestación hasta los **24 meses**.
- ❖ El número de neuronas y conexiones sinápticas se desarrollan en lo fundamental en ese período.
- ❖ Los que sobreviven a la DI presentan profundas limitaciones intelectuales



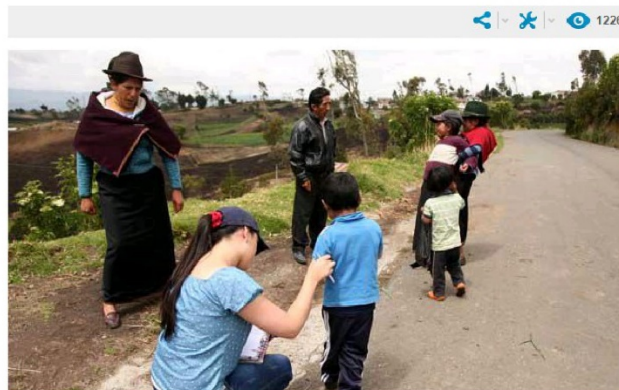
https://www.unicef.org/ecuador/media_9001.htm

EL GOBIERNO NACIONAL HA IMPLEMENTADO ACCIONES CONTRA LA DI DESDE 1986.

ACTUALIDAD 00

EL COMERCIO

La desnutrición infantil no se erradicó en 31 años en el Ecuador

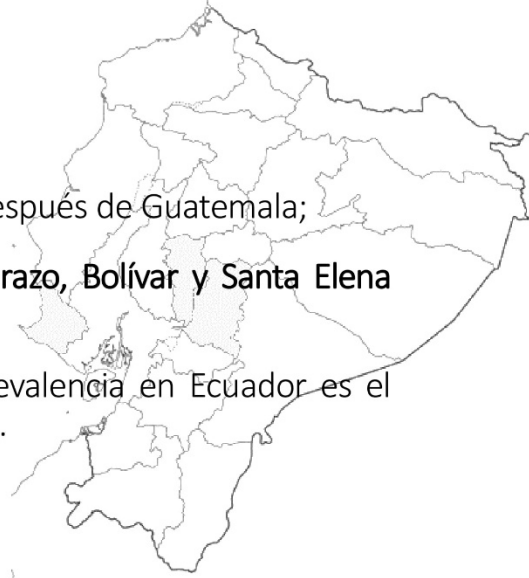


En la comunidad de Sanancaguán Alto, en Guamote (Chimborazo), se hacen controles de peso a los infantes. Foto: Glenda Giacometti/ EL COMERCIO.

<https://www.elcomercio.com/actualidad/desnutricon-infantil-erradicacion-ecuador-problemas.html>

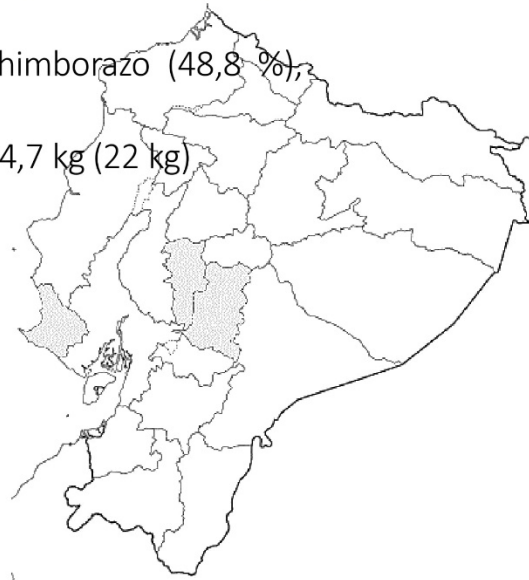
LOS ALTOS NIVELES DE DI EN ECUADOR: ¿CÓMO SE EXPLICAN?

- ❖ DI en Ecuador (1986): 40 % (niños de entre 0-5 años); (2014): 24 %
- ❖ Ocupa el segundo lugar en la región, después de Guatemala;
- ❖ Las provincias más afectadas: **Chimborazo, Bolívar y Santa Elena** (Ensanut 2012-2014)
- ❖ El componente de la DI de mayor prevalencia en Ecuador es el retraso en el crecimiento (López, 2018).



LOS ALTOS NIVELES DE DI EN ECUADOR: ¿CÓMO SE EXPLICAN?

- ❖ Las tres provincias más afectadas: Chimborazo (48,8 %), Bolívar (40,8 %) y Santa Elena (37,7 %).
- ❖ Ejemplo: Mide: 98 cm (110 cm), pesa: 14,7 kg (22 kg)



<https://mundo.sputniknews.com/america-latina/201802231076526684-quito-infancia-ninos-desarrollo/>

LOS ALIMENTO LISTOS PARA USAR DE LA UNICEF (RUTFS) ... Y MUCHOS OTROS

- ❖ Los RUTFs se han usado desde 1995 en África con buenos resultados.
- ❖ Limitaciones: **son muy costosos**.
Un tratamiento de 6 meses cuesta de entre US\$ 150-200/niño.
Es un negocio para unas pocas empresas.
- ❖ Cuando cesa el tratamiento, el niño vuelve al estado original.
- ❖ Un huevo diario: otra alternativa barata, pero no suficiente.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20522296>

POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

- ❖ Desarrollar una **estrategia nacional** para combatir la desnutrición infantil
- ❖ Se requiere en tiempos de austeridad de un **alimento económico** que contiene:
- ❖ Carbohidratos,
- ❖ Proteínas,
- ❖ Lípidos,
- ❖ Minerales y vitaminas
- ❖ de **producción nacional**.

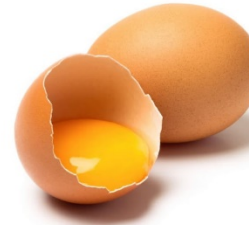


POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

TABLA COMPARATIVA DE CALIDAD PROTEICA

Tipo de Proteína	Digestibilidad Proteica Corregida por el Score de Aminoácidos * (PDCAAS) *	Score de Aminoácidos Esenciales	Índice de Eficiencia de Proteína (PER)**	Valor Biológico (BV)**	Digestibilidad Proteica % (PD)**
Concentrado de Proteína del Suero	1,00	1,14	3,2	104	99
Huevo Integral	1,00	1,21	3,8	100	98
Caseína	1,00	1,19	2,9	77	99
Concentrado de Proteína de Soja	0,99	1,04	2,2	74	95
Carne Bovina	0,92	0,94	2,9	80	98
Gluten de Trigo	0,25	0,47	0,34	54	91

Fuentes:
 i. *Protein Quality Evaluation. Report of the Joint FAO/WHO Consultation*, 1991. (Evaluación de la Calidad Proteica. Informe de la Comisión Conjunta de la FAO/OMS, 1991)
 ii. *Reference Manual for U.S. Whey Products*, 2nd Edition, U.S. Dairy Export Council, 1999. (Manual de Referencia de Productos de Suero de EE.UU., 2ª edición, 1999)
 ** Siglas en inglés



POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Beneficios del lactosuero para una formulación de un alimento fortificado:

- ❖ De 100 litros de leche para hacer queso, se obtienen 90 de lactosuero
- ❖ El lactosuero hasta la fecha es desechado “para los chanchos”
- ❖ Un producto barato



POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Composición aproximada del lactosuero líquido:

Componente	%
Solidos totales (Materia seca)	6
Lactosa	5
Proteínas	0,7
Minerales	0,5
Calcio	0,04
Fosforo	0,01
Grasas	0 – 0,5



POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Composición aproximada del lactosuero en polvo:

Componente	%
Solidos totales	96-97
Lactosa	70-75
Proteínas	10-13
Minerales	7-12
Calcio	0,45
Tiamina	0,4-0,6 mg
Riboflavina	2,3–2,5 mg
Piridoxina	0,4-0,6 mg



<http://www.milkingredients.ca/index-eng.php?id=194>

POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Composición leche materna:

- ❖ La proteína de la leche humana está compuesta de 30% de caseína y 70% de proteínas del suero.
- ❖ Las proteínas del suero son entre otras:
 α -lactoalbúmina (de alto valor biológico para el niño), seroalbúmina, β - lactoglobulinas, inmunoglobulinas, glicoproteínas, Lactoferrina..
- ❖ La leche madura tiene 100 mg/100 ml de IgA contra 4 mg/100 ml de IgG.
- ❖ La lactoferrina además de su acción bacteriostática sobre ciertos gérmenes ferrodpendientes (*E. Coli*), contribuye a la absorción del hierro en el intestino del niño. (Räihä, 1985).
- ❖ La cistina es otro aminoácido que está combinado con la metionina en una proporción de 2:1, específica para la leche humana.

<https://www.unicef.cl/lactancia/docs/mod01/Mod%201beneficios%20manual.pdf>

POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Composición leche materna:

- ❖ El principal carbohidrato de la leche es la lactosa, un disacárido compuesto de glucosa y galactosa. La leche humana tiene un alto contenido de lactosa, 7 %.
- ❖ La lactosa se metaboliza en glucosa y galactosa antes de ser absorbida por el intestino. Provee el 40% de la energía, pero además tiene otras funciones:
- ❖ La porción galactosa participa en la formación de los galactolípidos necesarios para el sistema nervioso central (Casey & Cambridge, 1983).
- ❖ La alta concentración de lactosa en la leche humana facilita la absorción del calcio y el hierro y promueve la colonización intestinal con el *lactobacillus bifidus*, flora microbiana fermentativa que al mantener un ambiente ácido en el intestino, inhibe el crecimiento de bacterias, hongos y parásitos.

<https://www.unicef.cl/lactancia/docs/mod01/Mod%201beneficios%20manual.pdf>

POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Perfil Lactosuero en polvo:

- ❖ Presenta elevado valor biológico
- ❖ Considerable cantidad de aminoácidos esenciales, sulfurados y de cadena ramificada
- ❖ Proteína: 20 – 25 % α – lactalbúmina (proteína principal leche humana)
- ❖ Inmunoglobulinas: IgG1, IgG2, IgA e IgM, mejoran sistema inmunológico
- ❖ Lactoferrina: aumenta y mejora absorción de hierro, inhibe *H. pylori*

POSIBLE SOLUCIÓN DE LA DESNUTRICIÓN INFANTIL

Conclusiones

- ❖ Reemplazar la leche desnatada en polvo por concentrado de proteína de suero (WPC) no afecta la aceptabilidad y la tolerancia de los alimentos terapéuticos contra la DI;
- ❖ La WPC puede usarse para reemplazar la leche desnatada deshidratada en RUTF para reducir los costos, manteniendo la efectividad del producto.
- ❖ La WPC no contribuye solamente con proteínas similares a la leche materna, sino también con carbohidratos (lactosa), inmunoglobulinas y Lactoferrina.



Instrucciones a los autores

REVISTA BIORREFINERÍA

<http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria/>

Instrucciones a los autores (Plantilla)

Título en español

English title

Nombre y apellidos¹, Nombre y apellidos²

¹Institución, ciudad, País

²Institución, ciudad, País

Email:

Resumen

Exponer el problema bajo investigación en una sola oración, si es posible. El método experimental, incluyendo los mecanismos, procedimientos de recopilación de datos, nombres completos de pruebas. Los hallazgos, incluyendo los niveles de significación estadística; y las conclusiones y las implicaciones o aplicaciones. Máximo 120 palabras.

Palabras clave: no más de cinco.

Abstract

Keywords:

Recibido: 21 de septiembre de 2017

Aceptado: 21 de octubre de 2017

Introducción

La introducción presenta la teoría que sustenta la experimentación. Contiene el planteamiento del problema, el desarrollo de los antecedentes y el propósito y fundamentación.

Las contribuciones enviadas a revista Biorrefinería deben abordar la temática de todo lo concerniente al desarrollo de la Bioeconomía de base Biotecnológica en los campos agrícola, alimentos, salud, ambiente, energías e industria.

Se aceptarán contribuciones de los siguientes tipos: revisión (review), empíricos, metodológicos y estudios de caso. Se aceptarán solamente contribuciones inéditas. El envío de estas supone el compromiso del autor de **no** someterlas a la consideración de otras publicaciones y de **ceder sus derechos** a la revista. Los artículos se someterán al sistema de revisión por pares, en la modalidad abierta al editor asociado, manteniendo el anonimato. Este recurso es inapelable. Se enviará por correo electrónico a: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com).

Se escribirán en español a un espacio y en Calibri Light 12 puntos, con una extensión **máximo** de 8 páginas. El formato a utilizar debe ser A4, los márgenes laterales, superior e inferior deben ser de 2 cm. Las tablas y figuras se insertarán en el lugar exacto y se acompañarán de su correspondiente

título y pie de figura. El procesador de texto a utilizar será Microsoft Word. Las tablas deben crearse en este mismo software. Las figuras (fotografías, gráficos, esquemas) deben insertarse en formato JPG con una resolución de 300 dpi. Las unidades de medida deberán ser las especificadas en el Sistema Internacional de Unidades.

Materiales y Métodos

Informar qué es lo que usted hizo y cómo lo hizo. Descripción de participantes (muestras), Método estadístico y diseño experimental, Herramientas o materiales, Procedimiento. Escribir en tiempo pretérito.

Resultados y Discusión

Los resultados responden a los objetivos planteados en el experimento. Tablas y figuras de resultados, Análisis estadístico, presentar los hallazgos relevantes. Discusión es analizar e interpretar los resultados obtenidos. (Debe comparar sus resultados con otros autores), escribir en tiempo presente.

Conclusiones

Las conclusiones responden al problema científico expuesto en la introducción el cual dio origen al experimento en busca de una respuesta. Consecuencias, deducciones y generalizaciones que emanan de la evidencia aportada por los resultados y su interpretación. Sintetiza la idea planteada y los argumentos que se utilizaron para sustentarla. Evalúa lo planteado, señalando sus alcances y sus limitaciones. Plantea implicaciones o nuevos interrogantes al problema. Escribir en tiempo presente.

Agradecimiento (opcional)

Referencias Bibliográficas

Aplicar la norma APA

Contacto:

Revista Biorrefinería: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com)

ISSN impreso: 2602-8530

Formato: 21 x 29,7 cm

ISSN digital: xxxxxxx

URL: www.ceba.org.ec/revistabiorrefineria

**Misión:**

Producir y comercializar bioproductos, mediante la aplicación de las técnicas modernas de la bioingeniería, que permita el máximo aprovechamiento de los recursos de la biodiversidad ecuatoriana en el marco del Desarrollo Global Sustentable.

Visión:

Ofrecer un portafolio de bioproductos que contribuyan con el bienestar del ser humano y del planeta.

Valores:

integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración, diversidad.

Biodiversity® | Dirección: Periférico Sur s/n, San Antonio, www.biodiversity.com.ec, info@biodiversity.com.ec, Cel. 099 7589267, Ibarra-Ecuador



Tecnologías

- Producción de micelios (semillas) de hongos comestibles.
- Producción de champiñones (*Pleurotus* spp.).
- Producción de agro biológicos (*Trichoderma* spp.)
- Producción de saponinas esteroides.
- Producción de hecogenina (materia prima para producir la cortisona)
- Producción de suplementos alimenticios.
- Producción de extractos vegetales.
- Producción de alcaloides.
- Producción de bioles (agrobiológicos).
- Producción de bagazo hidrolizado para alimentación animal.
- Producción de aceites esenciales.
- Producción de biogás. Producción industrial de hongos frescos.
- Producción de hongos deshidratados.
- Producción de hongos en conservas.
- Producción de capsulas de hongos.
- Producción de Beta-Glucan.
- Producción de enzimas (lacasas, celulasas, amilasas, etc.).
- Producción de chicha de jora (de maíz).

