

## SELECCIÓN DE UNA LEVADURA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA: CRECIMIENTO EN SUERO DE QUESO<sup>1</sup>

Wendy Zumbado-Rivera<sup>2</sup>, Patricia Esquivel-Rodríguez<sup>2</sup>, Eric Wong-González<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Selección de una levadura para la producción de biomasa: crecimiento en suero de queso.** El presente proyecto se realizó con el objetivo de recomendar una especie de levadura para la producción de biomasa, utilizando como sustrato el suero de leche del proceso de elaboración de queso blanco tipo Turrialba. Se compararon las especies *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir* y *Saccharomyces cerevisiae* por medio de su crecimiento en un sistema de fermentación por lotes. Se determinó el tiempo de fermentación, la productividad total y el contenido de proteína de la biomasa. Al comparar la variación en el tiempo según la levadura utilizada, se obtuvo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las levaduras *K. marxianus* y *C. kefir* presentaron un tiempo de 19 y 18 horas, respectivamente y *S. cerevisiae*, un tiempo de 24 horas. Con respecto a la productividad total de biomasa, la especie *K. marxianus* presentó un valor de 0,22 g/Lxh, resultando significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) a las especies *C. kefir* y *S. cerevisiae*, para las cuales se obtuvieron productividades de 0,14 y 0,13 g/Lxh. La variación en el contenido de proteína de acuerdo con la levadura utilizada no resultó significativo ( $p < 0,05$ ). Para la especie *K. marxianus* se obtuvo un contenido de proteína de 32%, 34% para *C. kefir* y 35% para *S. cerevisiae*. Se seleccionó la especie de levadura *Kluyveromyces marxianus* para la producción de proteína unicelular, por presentar un menor tiempo de fermentación, mayor productividad e igual contenido proteico de la biomasa que las otras levaduras, además de facilidades de utilización.

**Palabras clave:** Proteína unicelular, lactosa, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir*, *Kluyveromyces marxianus*.

### ABSTRACT

**Selection of yeast for biomass production based on the cultivation results on whey.** The objective of this research was to recommend a yeast species useful for biomass production in the form of single cell protein, using whey obtained from Turrialba cheese manufacturers as substrate. Three yeasts (*Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir* and *Saccharomyces cerevisiae*) were grown separately in a batch fermentation system, and the fermentation time, total productivity and protein content of the biomass were determined. Significant differences ( $p < 0.05$ ) were found in the fermentation times required by each yeast. *K. marxianus* and *C. kefir* respectively showed a fermentation time of 19 and 18 h, while *S. cerevisiae* needed 24 h. *K. marxianus* showed a productivity of 0.22 g/Lxh, significantly different ( $p < 0.05$ ) from the productivities of *C. kefir* and *S. cerevisiae*, with values of 0.14 g/Lxh and 0.13 g/Lxh, respectively. The protein content of the biomass for *C. kefir*, *S. cerevisiae*, and *K. marxianus* were respectively of 34%, 35% and 32%. Considering the lowest time required for fermentation, the highest productivity and an equal content of protein in the biomass when compared to the other two yeasts, *Kluyveromyces marxianus* was chosen as the recommended yeast to produce single cell protein from cheese whey.

**Key words:** Single cell protein, lactose, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir*, *Kluyveromyces marxianus*.

<sup>1</sup> Recibido: 7 de setiembre, 2005. Aceptado: 17 de julio, 2006. Proyecto de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.

<sup>2</sup> Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica. Correo electrónico: wzumbado@gmail.com.

## INTRODUCCIÓN

El suero de leche es el principal subproducto en la fabricación de quesos. Según datos reportados, en el 2001 se generaron aproximadamente 332 millones de litros de suero de leche (CNP 2001). En Costa Rica, la utilización del suero de leche no se ha industrializado, su aprovechamiento está limitado por la dificultad de transporte y porque al igual que el resto de productos lácteos, es perecedero, lo que hace imposible almacenarlo, sin ningún tratamiento, por más de dos días (Barroquio *et al.* 1981). Si el suero es desechado en los ríos se convierte en una grave contaminación, pues presenta una demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5,20</sub>) muy alta, que se encuentra entre los 40.000 y los 50.000 mg O<sub>2</sub>/l (Salazar 1999).

Al generarse elevados volúmenes de suero de leche, y con niveles de contaminación superiores a la cantidad máxima permitida para el vertido de aguas residuales en ríos o alcantarillado público (300 mg O<sub>2</sub>/l) (Ministerio de Salud 1997), resulta necesario buscar métodos para su aprovechamiento. Una alternativa es utilizar el suero como medio para el crecimiento de microorganismos para la producción de biomasa. La masa de microorganismos obtenida (levaduras, mohos, bacterias, algas) posee un alto contenido proteico, por lo que recibe el nombre de proteína unicelular. En diversas investigaciones se ha indicado la posibilidad de obtener proteína unicelular mediante el crecimiento de microorganismos que hacen uso de la lactosa presente en el suero (Bu'Lock y Kristiansen 1991; Hernández *et al.* 1980; Grba *et al.* 2002). Especies de levadura como *Kluyveromyces marxianus* y *Candida kefyr* son capaces de fermentar la lactosa, al ser productoras de la enzima  $\beta$ -D-Galactosidasa (EC 3.2.1.23), la cual hidroliza la lactosa en sus componentes básicos (Rajoka *et al.* 2003; Inchaurredo *et al.* 1994). Ambas levaduras han sido empleadas en investigaciones para la generación de biomasa, etanol y para la producción de la enzima (Belem *et al.* 1997).

Para la generación de biomasa a partir de la lactosa del suero también es posible el empleo de levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, cuyo crecimiento se logra si la lactosa es hidrolizada previamente en glucosa y galactosa, por medio de preparados enzimáticos (Mittal 1992). Esta especie de levadura presenta una amplia utilización y aceptación en la industria para la alimentación animal y humana, lo que

podría resultar en una ventaja para su utilización (Liti *et al.* 2001).

El proceso de producción de proteína unicelular es una vía biotecnológica adecuada para el aprovechamiento de desechos industriales ricos en carbohidratos. De hecho, el principal factor limitante en la generación de proteína unicelular es el alto costo de las fuentes de carbono, por lo que el uso de subproductos es ideal (Durán 1989). El emplear el suero en este proceso permitiría darle valor agregado, al obtenerse proteína de calidad para la alimentación animal, y a la vez disminuir su DBO para su posterior descarga (Ghaly y Kamal 2004). Esta disminución, según datos reportados para levaduras, se encuentra entre 70-80% del DBO inicial del suero, lo que convierte este proceso en una opción adecuada para su tratamiento (Capoor y Singh 1985; Chinappi y Sanchez 2000).

El interés por producir proteína unicelular fue estimulado por agencias internacionales relacionadas con la salud, alimentación y agricultura ante la evidencia de una escasez de proteína a nivel mundial (Bu'Lock y Kristiansen 1991), es por esto que la búsqueda de fuentes proteicas es vital (Chacón 2004).

La biomasa de origen unicelular tiene aplicaciones como suplemento proteico en alimentación animal, además, se ha investigado su utilización en la fabricación de ingredientes funcionales, suplementos proteicos, para resaltar el sabor de alimentos procesados, entre otros (Lee 1996). Para su aplicación en la alimentación humana, requiere el empleo de métodos para la reducción del nivel de ácidos nucleicos, ya que si son consumidos en altas proporciones podrían causar la formación de cálculos renales u otras enfermedades. A diferencia de los humanos, el ganado tolera altos niveles de ácidos nucleicos, por lo que la proteína unicelular podría utilizarse inicialmente en alimentación animal sin requerir ningún tratamiento (Lee 1996).

Los componentes del suero que tienen mayor importancia para ser utilizados como sustrato son lactosa, proteína y minerales (Quintero *et al.* 2001). Con el fin de lograr una utilización eficiente de estas sustancias, es importante elegir una levadura con adecuadas características fisiológicas (Grba *et al.* 2002). Por lo anterior, considerando la evidencia científica de las características de las levaduras *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefyr* y *Saccharomyces cerevisiae* para su

desarrollo en el suero de queso, así como su utilización en procesos biotecnológicos (Inchaurredo *et al.* 1994; Quintero *et al.* 2001; Rose 1979; Moo-Young *et al.* 1985), el objetivo de este proyecto es evaluar el crecimiento de tres especies de levaduras en el proceso de producción de proteína unicelular, con el fin de seleccionar y recomendar una de ellas para ser utilizada en el suero de queso. Uno de los criterios de selección del microorganismo a emplear en el proceso es la productividad de biomasa, unido a otros resultados como son el tiempo de fermentación, el contenido de proteína de la biomasa y aspectos económicos, los cuales se derivarían de características propias de la utilización de cada levadura, como pretratamientos del sustrato.

El producto obtenido se podría destinar a la alimentación animal y en el futuro continuar las investigaciones para utilizarlo en la alimentación humana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo de abril del 2004 a marzo del 2005 en las instalaciones de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica.

### Suero de queso utilizado

Se utilizó el suero residual de la elaboración de queso blanco tipo Turrialba de una empresa productora de Cartago. Este tipo de queso corresponde la categoría de quesos frescos que se elaboran de cuajada sin maduración. La tradición latinoamericana se basa en quesos blancos elaborados a partir de leche de vaca. El proceso de elaboración parte de leche parcialmente descremada o leche entera. Se procede a su coagulación utilizando cultivo, cuajo y ácido, y el producto obtenido luego del desuerado es salado, moldeado, posteriormente prensado y es consumido en su estado fresco (Revilla 1985).

El queso blanco tipo Turrialba es de color blanco amarillento, de sabor simple, no ácido, de textura suave y de corte limpio y no grasoso. Presenta un elevado contenido de humedad, mayor del 50%, un contenido de grasa que varía entre 10-26% y un contenido de sal que varía entre 1-3% (CNP 1999).

Las muestras se tomaron directamente de la tina de desuerado y fueron transportados en recipientes higienizados de aluminio con tapa, los cuales fueron previamente lavados y desinfectados.

### Levaduras y condiciones de mantenimiento

a. *Kluyveromyces marxianus sp. marxianus* LAF-4, liofilizado. Almacenado a una temperatura de -40 °C. Casa comercial Chr. Hansen. Levadura lactosa positivo.

b. *Candida kefyr* ATCC (2004) 66028, liofilizado, lactosa positivo. Esta fue mantenida en el medio Saborou glucosado (Difco, Becton, Dickinson and Company) a temperatura ambiente.

c. *Saccharomyces cerevisiae*, levadura seca instantánea de la casa comercial Fleishmann. Almacenado a una temperatura de 4°C. Levadura lactosa negativo y glucosa positivo.

### Equipo de fermentación

Se utilizó un fermentador diseñado para el estudio (Figura 1), consta de un frasco de fermentación (capacidad de 2 l), unidades de toma de muestra, inoculación y salida de gases. El mantenimiento de la temperatura se realizó empleando una incubadora que se ajustó a la temperatura del proceso. Para la aireación se utilizó una bomba pequeña de 2,5 l/min de capacidad, conectada a un rotámetro, por medio del cual se reguló el flujo de aire. El aire fue esterilizado haciéndolo pasar previamente a través de un filtro de 0,22 µm.

Para la agitación del medio se utilizó una pastilla de agitación magnética colocada dentro del frasco de fermentación.

### Proceso de fermentación

#### a. Preparación del suero de leche

Se llevó a cabo la preparación de la totalidad del suero de queso a emplearse para el crecimiento de las tres levaduras.













