

## Obtención de Proteína Unicelular (SCP) a partir de Ácido Acético por *Saccharomyces exiguus*

SALDAÑA-ACOSTA Jorge Miguel<sup>1\*†</sup> & ZAPATA MOREIRA Emilia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica Gral. Mariano Escobedo. Carrera de Química área Tecnología Ambiental; <sup>2</sup>Carrera de Mecatrónica área Automatización. Libramiento Noreste Km 33.5 Escobedo N.L. CP 66050. Tel 5000 – 4247.

Recibido 3 de Julio, 2017; Aceptado 25 de Septiembre, 2017

### Resumen

*Saccharomyces exiguus* es una levadura, que puede ser utilizada como agente biológico en la producción por fermentación de proteína unicelular (SCP) con valor biológico en la alimentación animal y/o humana. En la presente investigación se aisló e identificó la levadura *Saccharomyces exiguus* a partir de agua miel; además se optimizó el medio de producción de la SCP en relación a su composición (0.75 % de Ácido Acético; NH<sub>4</sub>Cl 5.0 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5.0 g; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 2.5 g; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O; 300 mg/l de Extracto de Levadura; aforado a 1000 ml con agua de la llave); pH (4.5); Temperatura de incubación (30 °C); Tiempo de fermentación (72 h); rendimiento en peso seco (8.9 g/l) y coeficiente de rendimiento Y(x/s) [1.13]

**Levadura, Proteína Unicelular, *Saccharomyces exiguus***

### Abstract

*Saccharomyces exiguus* is a yeast that can be used as a biological agent in the production by fermentation of unicellular protein (SCP) with biological value in animal and / or human food. In the present investigation *Saccharomyces exiguus* yeast was isolated and identified from honey water; The production medium of the SCP was also optimized in relation to its composition (0.75% acetic acid, NH<sub>4</sub>Cl 5.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5.0 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 2.5 g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 300 mg / l yeast extract, volumetric To 1000 ml with tap water); pH (4.5); Incubation temperature (30 °C); Fermentation time (72 h); Dry weight yield (8.9 g / l) and yield coefficient Y (x / s) [1.13]

**Yeast, Unicellular Protein, *Saccharomyces exiguus***

**Citación:** SALDAÑA-ACOSTA Jorge Miguel & ZAPATA MOREIRA Emilia. Obtención de Proteína Unicelular (SCP) a partir de Ácido Acético por *Saccharomyces exiguus*. Revista de Investigación y Desarrollo 2017, 3-9: 1-10.

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: 3010jmsa@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Uno de los principales problemas que enfrenta la humanidad hoy en día, es el abastecimiento de alimentos con calidad nutricional; esto debido a varios factores como el deterioro de los suelos y mantos acuíferos por diversas sustancias químicas tóxicas, a las malas condiciones climáticas de ciertas regiones, el alto costo del agua y de fertilizantes químicos, además de la explosión demográfica tan alta que genera una gran demanda de nutrientes para alimentar a la población en constante crecimiento.

La producción agrícola y pecuaria actual, aún con el desarrollo de sofisticados procesos de fertilización biológica, y la capacitación del personal en el aprovechamiento óptimo de los recursos naturales, no ha sido suficiente. (Taron-Dunoyer, 2012; Navarrete-Reinoso et. al., 2015). Es por ello que la implementación de nuevas técnicas agropecuarias y/o microbiológicas representa una alternativa viable para dar solución a esta problemática; debido a esto ha cobrado un interés notable el uso de microorganismos para proveer de nuevas fuentes de proteína a la humanidad.

Uno de los microorganismos más utilizados en la actualidad son las levaduras que sintetizan grandes cantidades de proteína, en poco tiempo, con materias primas de bajo costo (como subproductos de procesos alimenticios y/o residuos orgánicos) y de la localidad, no es tóxica, además de tener buena digestibilidad y buen sabor.

La producción de proteína unicelular representa una alternativa realmente sustentable en el manejo y aprovechamiento de residuos agrícolas, comerciales e industriales, los cuáles también de no ser manejados adecuadamente representan un importante problema de contaminación ambiental (Mejías-Brisuelas et. al., 2016).

Durante la primera conferencia sobre Proteína unicelular o biomasa (SCP) en el Instituto Tecnológico de Massachusetts, EUA (IMT) en 1967, se adoptó el término como estándar internacional para la bioproteína (Crueger Crueger, 1989). a la proteína obtenida de la biomasa de células bacterianas, levaduras, hongos filamentosos y algas cultivados en condiciones fermentativas apropiadas y controladas que garanticen una adecuada tasa de crecimiento usadas como fuente proteica (Ramírez Navas, 2012) con un alto contenido de compuestos nitrogenados como proteínas y ácidos nucleicos.

Esta forma alternativa de obtención de proteína nutrimental, presenta varias ventajas sobre la forma tradicional a partir de plantas y/o animales, ya que los sustratos para su desarrollo son subproductos o residuos orgánicos, muestran un alto rendimiento una vez establecidas sus condiciones óptimas de desarrollo y tienen un alto valor nutrimental; al estar sujeto a control el proceso se puede ajustar a los parámetros de desarrollo deseados. (Chalon et. al., 2013).

En la tabla #1 Se enlistan los valores porcentuales promedio y diferencias en composición (base seca) de los principales microorganismos utilizados para la producción de biomasa.

Compuestos Orgánicos	Hongos Filamentosos	Algas	Levaduras	Bacterias
Proteína	30 – 45	40 – 60	45 – 55	50 – 65
Lípidos	2 – 8	7 – 20	2 – 6	1 – 3
Ácidos Nucleicos	7 – 10	3 – 8	6 – 12	8 – 12
Cenizas	9 – 14	8 – 10	5 – 10	3 – 7
Aminoácidos	-----	----	54	65
Humedad	13	6	4.5	2.8

**Tabla 1** Diferencias de composición promedio de los principales grupos de microorganismos utilizados para la producción de biomasa (% peso seco)

Fuente: Nasser et. al., 2011; Crueger y Curger, 1989; Durán, 1989; Israelidis, 2003; EDV 2003)

## Objetivo general

Obtención de biomasa a partir de ácido acético por *Saccharomyces exiguus*, para alimentación animal.

## Objetivos específicos

- a. Determinar las condiciones óptimas de crecimiento en medio líquido en agitación, utilizando diversas concentraciones de ácido acético, pH y temperaturas de incubación.
- b. Maximizar el rendimiento de biomasa obtenida

## Antecedentes

Según (Rainbow et. al., 1963) la idea de la producción de levaduras como fuente de proteínas es atribuida a Delbruck en 1910, en Alemania.(Sánchez- Marroquín et. al., 1966 a) Refiere que las levaduras han sido utilizadas principalmente como: complemento alimenticio, preparación de forrajes, con fines dietéticos y terapéuticos, panificación y otras industrias de la alimentación por su riqueza en proteínas y vitaminas del complejo B. Menciona también que en la obtención de biomasa de levadura en gran escala, se han utilizado diversos sustratos tales como: mieles incristalizables, subproductos agrícolas y cereales.

Posteriormente se introdujo un nuevo sustrato, el licor sulfítico, producto residual de la industria de la celulosa, (Rainbow y Rose, 1963; Sánchez Marroquín et. al., 1966 a y Davis, 1967).(Sánchez Marroquín et. al., 1966 b), reporta el empleo de otros sustratos como el agua miel, jugo sacarino de diversas especies de Agave, para la obtención de levaduras con fines alimenticios o veterinarios con un buen rendimiento (2.3 % peso seco) y un contenido de proteína aproximado a 50 %.

(Davis, 1967) menciona el uso de varios derivados del petróleo para obtener biomasa, especialmente parafinas. (Pelczar et. al., 1966) comenta que durante la primera guerra mundial en Alemania, fue utilizada experimentalmente *Endomycopsis vernali*, para disponer de una fuente de grasas en dieta humana. En *Endomycopsis vernali*, *Turolopsis lipofera* y *Obspora lactis* su contenido graso puede exceder el 50 % de su peso seco.

Los experimentos de (Champagnat et. al., 1963), según (Davis, 1967) menciona a el petróleo como fuente de energía para la obtención de alimentos tales como proteínas y grasas producidas microbiológicamente, utilizando levaduras, debido a su gran diversidad de rutas metabólicas que presentan. (Davis, 1967) menciona que los cálculos de (Thaysen, 1957) son interesantes con respecto a la síntesis de proteínas por levaduras comparado con plantas y animales, él estima que por 5 toneladas de ganado se sintetizan por día 0.9 lbs., mientras que 5 toneladas de frijol Soya sintetizan diariamente 8.2 lbs., en cambio 5 toneladas de levadura producen 100 000 lbs. por día; diferencia muy notable en la velocidad de síntesis de proteínas en períodos cortos.(Wycener et. al., 1968) reportan que los ácidos orgánicos Butírico, Propiónico y Acético pueden servir como fuente de carbono y energía previa inducción de las enzimas del ciclo del glioxilato.

Los experimentos de (Van Der Berg et. al., 1976) demuestran que en muchos digestores anaeróbicos, el ácido acético es el precursor del 75 % del metano obtenido.(Latham et. al., 1976) encontró que la utilización del acetato por cuatro variedades de *Butyrivibrio fibroslovents* es influenciada por la composición del medio de cultivo de crecimiento del organismo. Observó que cuatro factores pueden afectar la toma del acetato: la presencia de lactato de sodio; la disponibilidad de CO<sub>2</sub>, el nivel de carbohidratos y la velocidad de producido.

Encontró que para la cepa D la concentración de acetato extracelular podría representar un factor importante. (Patel, 1977) observó que la incorporación es proporcional a la actividad específica del acetato externo, y la cantidad de acetato endógeno no varía significativamente con la adición de acetato exterior.

(Matssura et. al., 1973) utilizando dos medios de cultivo compuestos por sales de amonio (0.07 % y 0.28 %), ácido acético (1% y 2% v/v) y pH 5.9 y 6.3 respectivamente, cultivaron 103 cepas de hongos con un rendimiento en proteína de 38% y 50 % respectivamente, estos resultados indican que el ácido acético es una buena opción como fuente de carbono.

La biomasa microbiana ha sido utilizada como fuente de alimentación desde tiempos muy antiguos en regiones como México y África, especialmente utilizando *Spirulina* sp (Pelizer et. al., 2003). *Candida utilis* se utiliza principalmente en la producción de proteína unicelular, debido a su capacidad de utilizar una variedad de fuentes de carbono, como la paja de arroz (Rajoka et al., 2006), almidón de papa en aguas residuales (Gélinas y Barrette, 2007), aceite de aguas residuales (Zheng et al., 2005) y melaza (Nigam y Vogel, 1991; Carrillo et. al., 2010).

Debido a la escases de alimento en Berlín, Alemania se obtuvieron en gran escala cultivos de *Candida utilis* y *Candida arborea*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces fragilis* ( *k.marxianus* ) en ambas guerras mundiales como suplemento proteico por fermentación de caldos de sulfito de desecho de plantas de celulosa y por crecimiento en melazas en Jamaica (Carrillo et. al., 2010). Después también en USA y Finlandia como levadura forrajera pero debido a la superabundancia de proteínas vegetales. (Chacón, 2004) estos procesos se convirtieron en antieconómicos.

La primera proteína unicelular comercial utilizada como aditivo para alimentación animal fue llamada Pruteen.(Chacón, 2004) (Palmerín Carreño et. al., 2011) argumenta que en el crecimiento microbiano, las variables que son de gran importancia para la evaluación económica de tales procesos biotecnológicos son el rendimiento de biomasa sobre sustrato ( $Yx/s$ ), la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ), la constante de saturación de sustrato ( $K_s$ ), la constante de inhibición ( $K_i$ ), velocidad de consumo de oxígeno ( $QO_2$ ). Todos estos parámetros tienen importancia tecnológica, importante en los procesos de escalamiento (Tobajas y García- Calvo, 1999).

El perfil de aminoácidos esenciales es uno de los factores básicos a la hora de evaluar la calidad de un sustrato proteico como alimento; el perfil de aminoácidos de las levaduras es favorable, con niveles satisfactorios de la mayoría de los aminoácidos esenciales y niveles críticos de metionina. (Chacón, 2004).

La calidad nutricional de la SCP no depende solo de la composición de aminoácidos, sino que además debe tenerse en cuenta la digestibilidad, su valor biológico, la utilización neta de proteína y la razón de eficiencia de proteína (PER); además de la palatabilidad y aceptabilidad que representan características sensoriales(Chacón, 2004).

La SCP puede ser empleada en sustitución de varias fuentes tradicionales de proteína para dietas animales según la tabla # 2 que presenta los ahorros en piensos animales por sustitución parcial con SCP (Chacón, 2004).

Animal	Cantidad de SCP (Kg/t)	Cantidad de proteína reemplazada Fuente (Kg/t)	% de la proteína total contribuida por SCP
Ganado carne	100	Soya 182	36
Pollos	80	Soya 145	38
Pavos	50	Pescado 62	18
Cerdos	100	Soya 182	50
Terneritas(os)	50	Leche en polvo 114	17
Peces	250	Pescado 308	44

**Tabla 2** Ahorros en piensos animales por sustitución parcial con SCP

Fuente: *Suharto y Redyowati, 2003*

### Justificación

La aplicación de procesos biotecnológicos para incorporar a nuevos ciclos productivos diversos tipos de residuos o desechos generados por las actividades agropecuarias, comerciales o industriales, representa una opción adecuada y sustentable en cuanto a la disposición de estos desechos y transformarlos en sustratos de calidad nutricional y económica a través de la obtención de biomasa (Chacón-Olivares et. al., 2016).

### Metodo

#### Toma de muestra y Cultivo primario

Se colectaron muestras de suelo y agua miel de la destilería de Villa Aldama, N. L.; los cuáles fueron cultivados en Caldo Czapek modificado adicionado con 3 concentraciones (1%, 2% y 3% V/V) de ácido acético más 300 ppm de extracto de levadura como estimulante de crecimiento y pH 4.0. De cada una de las muestras, se depositó 1g o 1 ml en cada uno de los caldos preparados e incubados a temperatura ambiente con agitación rotatoria de 250 rpm durante 24 a 48 h; Se seleccionaron aquellos matraces que mostraron aumento de turbidez y fueron utilizados para realizar los aislamientos primarios.

### Purificación y aislamiento de cepas de microorganismos

Del cultivo masivo inicial se sembró por difusión y por estría en cuadrantes sobre placas de Petri con agar papa y dextrosa (PDA), se incubaron a 30 °C por 24 a 48 h. de acuerdo a Gradwohl, 1956. Se identificaron los distintos tipos de colonias desarrolladas en base a su morfología macroscópica; aquellas colonias completamente aisladas se resembraron por estría en cuadrantes sobre placas de Petri conteniendo PDA y así verificar la pureza de las colonias seleccionadas; estas se resembraron en tubo inclinado con PDA pH 5.2, se incubaron 24 a 48 h. Los cultivos puros se mantuvieron mediante resiembra periódica en tubos con PDA inclinado pH 5.2 y conservados a 4°C.

### Identificación de la cepa de levadura

Para la clasificación taxonómica de las levaduras aisladas se utilizaron los métodos mencionados por; Loder, 1970; Salle, 1970 y Trujillo et. al., 1976.

La cepa obtenida y purificada del cultivo masivo de agua miel fue resembrada por difusión y estría en cuadrantes sobre placas de Petri conteniendo PDA y agar Gordkowa, incubadas a 30 °C por 24 a 48 h; posteriormente se determinaron sus características de morfología colonial y morfología por microscopía óptica en fresco y por microscopía electrónica por tinción negativa.

Para determinar las mejores condiciones de fermentación se empleó el medio de cultivo czapek en el que se sustituyó la fuente de carbono (sacarosa) por ácido acético a varias concentraciones (0.25 %, 0.50 %, 0.75 %, 1 %, 2 % y 3 % v/v) y la fuente de nitrógeno (NaNO<sub>3</sub>) por NH<sub>4</sub>Cl además se añadió extracto de levadura a una concentración de 300 ppm. También fueron probados varios pH (3.0, 4.0, 4.5, 5.0, y 7.0).

### **Determinación de la capacidad de *Saccharomyces exiguus* para utilizar Ácido Acético (AA) en la producción de biomasa**

Matraces Erlen Meyer de 250 ml con 50 ml de medio mineral Czapek modificado con diversas concentraciones de ácido acético (0.25%, 0.5%, 0.75%) más 300 ppm de extracto de levadura y pH de 4.5. Inoculados cada uno de ellos con 5 ml de una suspensión de levaduras en solución salina, de un cultivo de 24 a 48 h de edad en PDA pH 5.2

La suspensión se concentró hasta obtener una turbidez de 250 a 300 unidades Klett, utilizando filtro rojo; los matraces inoculados fueron incubados a temperatura ambiente, con agitación rotatoria de 250 rpm aproximadamente por 96 h, fueron seleccionadas aquellas cepas en las que se observó mayor capacidad de desarrollo en el medio utilizado, para determinar las mejores condiciones de fermentación.

### **Efecto del pH del medio de cultivo sobre el desarrollo de *Saccharomyces exiguus***

Matraces Erlen Meyer de 250 ml con 50 ml de medio mineral Czapek modificado con 0.75% (v/v) de ácido acético más 300 ppm de extracto de levadura variando su pH (3.0; 4.5; 5.0 y 7.0). Fueron inoculados cada uno con 5 ml de una suspensión de levaduras en solución salina, de un cultivo de 24 a 48 h de edad en PDA pH 5.2 La suspensión se concentró hasta obtener una turbidez de 250 a 300 unidades Klett, utilizando filtro rojo; los matraces inoculados fueron incubados a temperatura ambiente, con agitación rotatoria de 250 rpm aproximadamente por 96 h,

### **Determinación de condiciones óptimas de crecimiento**

Del matraz o matraces con mayor desarrollo se determinaron las mejores condiciones de crecimiento, probando las diferentes combinaciones posibles en cuanto a pH, T y Concentración de ácido acético.

Para trazar la cinética de crecimiento se emplearán los siguientes parámetros: Peso seco, Proteína intracelular y Rendimiento  $Y_{x/s}$ .

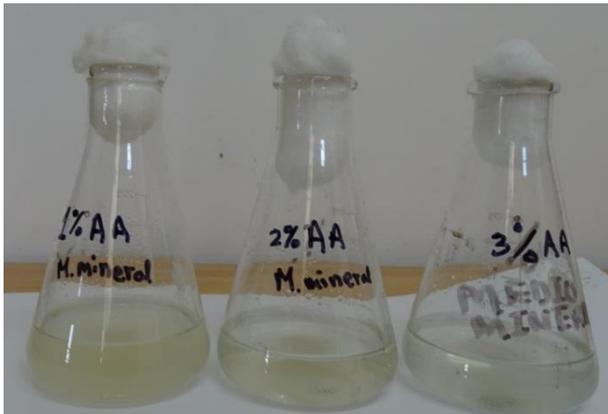
1.-Peso seco: A diversos intervalos de tiempo (0, 24, 48, 72 y 96 h) se tomó 1 ml del medio inoculado y se filtró a través de una membrana de celulosa GA-8 tamaño de poro 0.20  $\mu\text{m}$  y un diámetro de 13 mm (Millipore Gelman Instruments Co.), utilizando una jeringa hipodérmica de 5  $\text{cm}^3$  en seguida se lavó con 5 ml de agua destilada a 40 °C y se llevó a peso constante en una estufa a 100 °C por 24 h. Finalmente se pesaron los discos ya secos, la diferencia en peso seco (peso del filtro con células – peso del filtro sin células), se reporta como peso seco, graficando peso seco contra tiempo en papel semi logarítmico y calculando el rendimiento final (Schlegel, 1975).

2.-Proteína intracelular: A 1 ml del cultivo intacto se le añadieron 4 ml de ácido tricloroacético al 1.25 %, se mezcló y se centrifugó a 4000 rpm durante 20 minutos en una centrífuga CRU – 500 Damon/IEC Division. Se desechó el sobrenadante, se añadieron 2 ml de NaOH 1 N al precipitado celular dejando en reposo por una hora. Este hidrolizado alcalino sin diluir es tratado de acuerdo al método de Lowry et. al., (1951). Las densidades ópticas de las muestras fueron obtenidas en un espectrofotómetro Junior II Coleman.

3.-Rendimiento  $Y_{x/s}$  (g de peso seco por litro/g de ácido acético por litro)

### **Resultados**

De las muestras procedentes de agua miel de la destilería de Villa Aldama, N. L. se aisló una levadura que presentó buen desarrollo en los medios minerales con ácido acético como única fuente de carbono, se le denominó cepa I.



**Figura 1** Cultivo de agua miel en Medio Mineral con ácido acético (1%, 2% y 3% v/v) y 300 ppm de extracto de levadura pH 4.0

Fuente: Saldaña, 2016

Purificación e Identificación de la levadura.- A partir del cultivo inicial de agua miel en medio mineral se realizaron resiembras en cuadrantes sobre placas de Petri con PDA, donde se obtuvo un solo tipo de colonia, estas fueron blancas, circulares, lisas, secas, y convexas, sin formación de pseudomicelio; sus características microscópicas fueron las siguientes: células redondas u ovals con dimensiones de (2.0 – 2.5 )  $\mu\text{m}$  X (3.0 – 4.5)  $\mu\text{m}$ . La reproducción vegetativa es por gemación multilateral y la reproducción sexual es mediante ascosporas, presentando de 1 a 4 ascosporas por asca. (Tabla 3 y Figura 2). Sus características bioquímicas se muestran en la tabla 4.

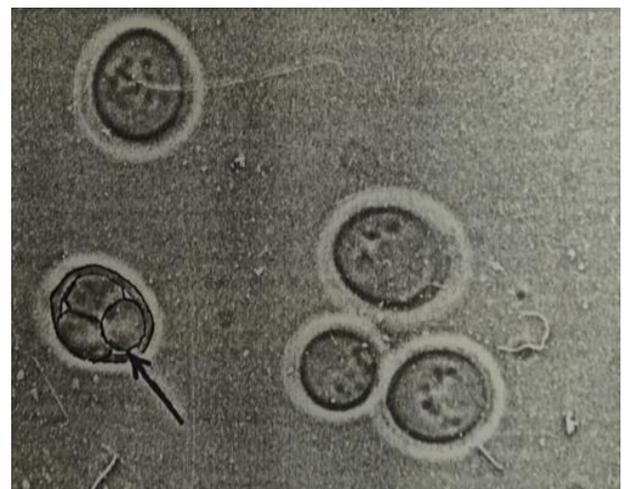
Características de <i>Saccharomyces exiguus</i>		
Características	Macroscópicas (colonias)	Microscópicas (células)
Color	Blancas	
Borde	Liso	
Aspecto/Apariencia	Seca	
Elevación	Convexa	
Forma	Circular	
Gram	Positivo	
Dimensiones		(2.0 – 2.5 x 3.0 – 4.5) $\mu\text{m}$
Reproducción Vegetativa		Gemación múltiple
Reproducción Sexual		Ascosporas

**Tabla 3** Características macroscópicas y microscópicas de *Saccharomyces exiguus*

Sustrato	Positivo	Negativo
Glucosa	+	
Galactosa	+	
Sacarosa	+	
Rafinosa	1/3	
Maltosa		-
Melobiosa		-
Trehalosa		-
Lactosa		-
Nano <sub>3</sub>		-
Urea		-
Asparagina	+	
Etilamina	+	

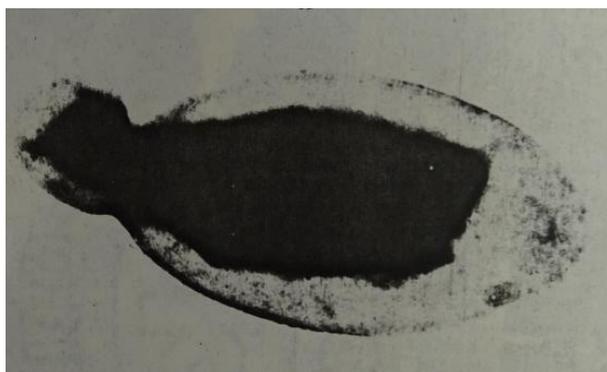
**Tabla 4** Características bioquímicas de *Saccharomyces exiguus*

En base a estos resultados de sus características bioquímicas, no utilizar maltosa, no metabolizar nitratos, no degradar lactosa, y la producción de ascosporas (3) en medio Gordkowa, su morfología macroscópica y microscópica la cepa I se identificó como *Saccharomyces exiguus*. La figura 2 muestra las ascosporas (3) en el cultivo de *S. exiguus* crecida en medio de Gordkowa; Figura 3 Fotografía de microscopia electrónica con tinción negativa a 14,400 X de *S. exiguus* crecida en Papa Dextrosa Agar pH 5.2.



**Figura 2** *Saccharomyces exiguus* crecida sobre medio de Gordkowa a 4 días de edad

Fuente: Ruíz Ordoñez, 2016



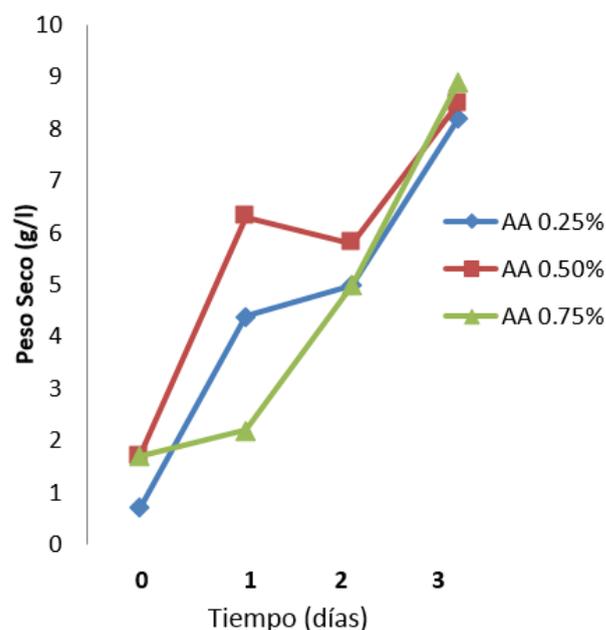
**Figura 3** *Saccharomyces exiguus* crecida sobre Papa Dextrosa Agar pH 5.2, 8 días de edad  
Fuente: Ruíz Ordoñez, 2016

*Saccharomyces exiguus* mostró una buena capacidad para desarrollarse en medio mineral czapek modificado pH 4.5. Los resultados obtenidos (grafica 1 y Tabla 5) muestran que el ácido acético al 0.75% (v/v) fue adecuado para la producción de proteína unicelular de acuerdo al rendimiento (178 g/l) bajo las condiciones de fermentación encontradas a nivel de matraz.

Tiempo de fermentación (h),	72
Agitación (rpm)	250
NH <sub>4</sub> Cl (g/l)	5.0
Ext.Lev (ppm)	300
% ácido acético (v/v)	0.75
Peso seco X (g/l)	178
Velocidad de crecimiento $\mu$ (h)	0.119
Rendimiento $Y_{x/s}$ (g/l)	1.13
Tiempo de generación $t_g$ (h)	5

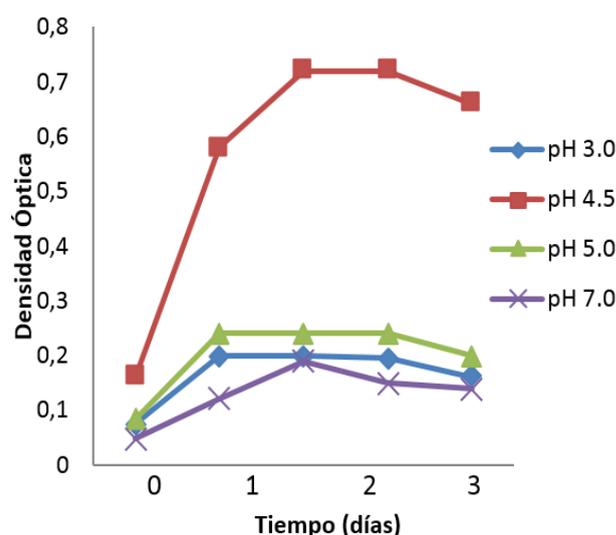
**Tabla 5** Condiciones de Crecimiento de *Saccharomyces exiguus* en medio mineral pH 4.5

El valor de la cantidad de proteína intracelular encontrada en la biomasa obtenida del crecimiento de *S. exiguus* en medio mineral AA al 0.75% (v/v) fue de 240.8  $\mu$ g/ml



**Gráfica 1** *Saccharomyces exiguus* creciendo en medio mineral Czapek modificado con 300 ppm de extracto de levadura pH 4.5

El mejor desarrollo de *Saccharomyces exiguus* creciendo en medio mineral se observó a pH 4.5 donde la densidad óptica alcanzó un valor de 0.72 (Gráfica # 2). En los otros pH's probados no tuvo un buen desarrollo



**Gráfica 2** *Saccharomyces exiguus* creciendo en medio mineral Czapek modificado a 0.75% de Ácido Acético con 300 ppm de extracto de levadura

## Conclusion

Se aisló una levadura capaz tolerar el ácido acético como fuente de carbono y producir biomasa en medio mineral con 0.75% (v/v) de ácido acético a pH 4.5; con un rendimiento ( $Y_{x/s}$ ) muy adecuado de 1.13 g/l.

Los resultados obtenidos muestran que el ácido acético puede ser empleado eficientemente como sustrato en la producción de proteína unicelular y representa una alternativa de aprovechamiento del ácido acético residual de procesos comerciales o industriales.

Las condiciones óptimas experimentales para *Saccharomyces exiguus* fueron las siguientes:

pH 4.5; Concentración de ácido acético 0.75% (v/v); Temperatura de incubación 30 °C y Agitación 250 rpm.

*Saccharomyces exiguus* posee excelentes características fisiológicas para desarrollarse en ácido acético, es tolerante al pH ácido, responde rápidamente a la adición de tiamina, niacina, biotina y ácido pantoténico del extracto de levadura, al no presentar fase de latencia lo cual incremento su rendimiento de biomasa en el menor tiempo de fermentación.

Nuestros resultados son mejores que los obtenidos por Sánchez, et. al., 2006 quienes lograron un rendimiento de 0.5 g/l con *Saccharomyces exiguus* creciendo en medio mineral de composición similar enriquecido con extracto de malta en reactores de 14 litros.

## Referencias:

Carrillo Inungaray María Luisa, Mayra Aguilar Zarate, Jorge Enrique Wong Paz y Diana Beatríz (2010). Producción de Biomasa de *Candida utilis* (Henneberg) a partir de melaza. U. Tecnociencia 4 (2): 32 – 40.

Chacón-Olivares María, Pacheco-Rivera Andrea, Cendejas-López Mayra y Ortega-Herrera Francisco (2016). Tendencia del crecimiento en la cultura del reciclaje. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. Vol. 2, N°5: 63-72.

Chacón Villalobos Alejandro (2004). Perspectivas Actuales de la Proteína Unicelular (SCP) en la Agricultura y la Industria. Agronomía Mesoamericana 15(1): 93 – 106.

Chalon, M., Terán, V., Arena, M., Oliszewki, R., González, S. (2013). Microbiological culture broth designed from food waste. Journal of Environmental Management, 115: 1-4.

Crueger W and Crueger A. (1989). Biotecnología: Manual de Microbiología Industrial. Zaragoza, España. Ed. Acribia. 413 p.

Davis J.B. (1967). Biosynthesis of chemical products, petroleum microbiology. 2° Edition Elsevier Publishing Co. U.S.A. pp 238 – 249  
Frias N.R. y E.R. Trucco (1972). Aislamiento y caracterización de mutantes de E.coli que desarrollan en ácidos grasos de cadena corta. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 14: 11-13

Gradwohl R.B.H. ,M.O.D.S. (1956). Clinical Laboratory Methods and Diagnostics. 5° Edition. The C. U. Mosby Co. U.S.A. II: 1423 – 1462.

Latham M.J. and N.L. Legakis (1976). Cultural factors influencing the utilization or production of acetate by *Butyrivibrio fibrosolvens*. Journal of General Microbiology. 94: 380 – 386.

Loder J. (1970). The Yeast, a taxonomic study. 2° Edition. North – Holland Publishing Co. Amsterdam – London.

Mejías-Brisuelas Nildia ,Orozco-Guillen Eber y Galaan-Hernández Néstor (2016). Aprovechamiento de los agroindustriales y su Contribución al Desarrollo Sostenible de México. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales Vol.2, N°6:27-41

Navarrete-Reinoso Ramón, Arredondo-Hidalgo María y González-Rosas Erika (2015). Revisión de la evolución de la Industria Alimentaria en México. Revista de Investigación y Desarrollo Vol.1, N°1: 7-17.

Palmerín Carreño Dulce María, Lorenzo Guevara Olvera, Francisco Villaseñor Ortega y Cristina Pérez Pérez (2011). Identificación de una levadura para producción de proteína unicelular para consumo humano y determinación de los parámetros cinéticos a nivel de matraces agitados. CIENCIA@UAQ. 4(2): 35 – 46.

Pelczar M.J. y R.O. Reid (1966). Microbiología 2º Edición. Mc Graw Hill Book Co. Pp. 211 – 224.

Patel Ramesh N.S., Louise Hoare D.S. Horare and b.f. Taylor (1977). Acetate assimilation by a type I Obligate Methylothroph. *Methylococcus capsulatus*. Applied and Environmental Microbiology. 34 (5): 607 – 610.

Ramírez Navas Juan Sebastián (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. Publicaciones e Investigación ISSN 1900 – 6608 Vol. 6: 69 – 83.

Sánchez-Marroquín A., C. Zermeño A., A. Zamarripa y J. García (1966 a). Nuevo sustrato para la propagación de levadura alimenticia en escala de laboratorio. Rev. Lat. Amer. Microbiol. Parasitol. 8: 189 – 195.

Sánchez – Marroquín A., C. Zermeño, L. Viera y S. Manrique (1966 b). Producción de biomasa de levadura en planta piloto. Rev. Lat. Amer. Microbiol. Parasitol. 8: 197 – 205.

Suharto I, Redyowait S. (1999). Mini-fermentation technology to produce single-cell protein from melasses (en línea). Consultado 12 abril 2003. [http://www.unu.edu/unupress/food/UNU06/cap\\_8.htm](http://www.unu.edu/unupress/food/UNU06/cap_8.htm).

Taron-Dunoyer A., J.Pérez-Mendoza y J. Martínez-Zambrano (2012). Obtención de proteína unicelular a partir de lactosuero. Vitae 19 (sup. 1): s189 – s191.

Trujillo Amanda G., D. Garza G., Ma. De los ángeles Sandoval (1976). Manual de Micología Médica. E.N.C.B. – IPN.

Van den Berg L.G.B., Patel D.S., Clarck and C.P. Lentz (1976). Factors affecting rate of Methane formation from Acetic Acid by enriched methanogenic cultures. Canadian Journal of Microbiology. 22: 1312 – 1319.

Wycener W.S., H.G. Rekever, R.A. Rems, L.S.J. Ajl (1968). Alternate Pathways of Metabolism of Short-Chain Fatty Acids, Bacteriol. Rev. 32: 1- 26.