



## Evaluación de la cinética de crecimiento de *saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo

Evaluation of the growth kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* using a culture medium based on cane molasses and whey

Julio Aguilar<sup>b</sup>, Mario Espinoza<sup>b,\*</sup>, Jhonatan Cabanillas<sup>b</sup>, Isis Ávila<sup>b</sup>, Arturo García<sup>b</sup>, John Julca<sup>b</sup>, David Tacanga<sup>b</sup>, Ivette Zuta<sup>b</sup>, Guillermo Linares<sup>a</sup>

a. Departamento de Ciencias Agroindustriales (Universidad Nacional de Trujillo) Av. Juan Pablo II s/n Trujillo, Perú.

b. Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Trujillo) Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo Perú.

\* Autor para correspondencia: [escorpio\\_18\\_211@hotmail.com](mailto:escorpio_18_211@hotmail.com) (M. Espinoza).

Recibido 3 Febrero 2015; Aceptado 12 Junio 2015

### RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar los residuos principales provenientes de la industria azucarera y lechera, como son la melaza de caña y suero lácteo como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*, teniendo como medio de cultivo control, jugo de uva suplementado. La *Saccharomyces* fue cultivada en balones de vidrio de 2000 mL de capacidad con sistema acoplado de aireado continuo para cada uno de los sustratos. La biomasa obtenida durante cada hora de crecimiento se cuantificó por medio de la técnica de la cámara de Neubauer y se evaluaron los parámetros de pH y °Brix en los medios de cultivo a través del tiempo. Adicionalmente se evaluaron los modelos matemáticos de Gompertz corregido y Logístico en la cinética de crecimiento de la levadura; permitiendo obtener una velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) [ $\text{h}^{-1}$ ] de 0.0923 y 0.1103; precedida de un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de 1.5044 y 2.8230 h y un tiempo de generación (G) [h] de 3.2608 y 2.7292 para Gompertz. Una velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) [ $\text{h}^{-1}$ ] de 0.0869 y 0.1033; precedida de un tiempo de latencia ( $\lambda$ ) de 1.5596 y 2.8583 h y un tiempo de generación (G) [h] de 3.4631 y 2.9134 para el modelo Logístico; tanto para el medio melaza + suero lácteo como para el jugo de uva suplementado respectivamente. En ambos casos se obtuvo un buen ajuste entre los datos experimentales y los valores predichos por los modelos. El coeficiente de determinación  $R^2$  para los dos modelos es superior al 90% (0.9896 y 0.9812 – Gompertz/ 0.9774 y 0.9709 – Logístico) (Melaza + Suero/ Jugo de uva suplementado); lo que demuestra que ambos modelos explican un alto porcentaje de la variabilidad de los datos. Resulta ventajoso el modelamiento a través del modelo corregido de Gompertz, porque permite obtener los parámetros de la cinética de crecimiento de manera directa.

**Palabras clave:** Melaza de caña, lactosuero, *Saccharomyces cerevisiae*, Modelo de Gompertz, Modelo Logístico.

### ABSTRACT

This research aimed to evaluate the main waste from the sugar and dairy industries, such as cane molasses and whey as a substrate for the production of *Saccharomyces cerevisiae*, as a means of taking control culture, grape juice supplemented. *Saccharomyces* was grown in glass balls 2000 mL capacity with continuous aerated system coupled to each of the substrates. The biomass obtained during each hour of growth was quantified by means of the technique of Neubauer chamber and the parameters of pH and Brix in the culture media over time were evaluated. In addition to evaluating mathematical models of Gompertz corrected and Logistics on the kinetics of growth of yeast; allowing to get a specific rate of growth ( $\mu_{\text{max}}$ ) [ $\text{h}^{-1}$ ] 0.0923 and 0.1103; preceded by a time of latency ( $\lambda$ ) 1.5044 and 2.8230 h and (G)

generation time [h] 3.2608 and 2.7292 for Gompertz. A specific rate of growth ( $\mu_{max}$ ) [h<sup>-1</sup>] 0.0869 and 0.1033; preceded by a time of latency ( $\lambda$ ) 1.5596 and 2.8583 h and (G) generation time [h] 3.4631 and 2.9134 for the Logistic model; both substrates molasses + whey and supplemented grape juice respectively. In both cases was a good fit between the experimental data and the values predicted by the models. The coefficient of determination R<sup>2</sup> for both models is greater than 90% (0.9896 and 0.9812 - Gompertz / 0.9774 and 0.9709 - Logistics) (molasses + whey / supplemented grape juice); which shows that both models account for a high percentage of the variability of the data. Modeling is advantageous through the corrected gompertz model, because it allows getting the kinetics of growth parameters directly.

**Keywords:** Cane Molasses, whey, *Saccharomyces cerevisiae*, Gompertz model, Logistic Model.

## 1. Introducción

La caña de azúcar es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz, en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, que al ser extraído y cristalizado forma el azúcar (Fajardo y Sarmiento, 2007). Sin embargo, no todo el jugo de la caña es convertido en azúcar, sino que una parte de ella queda en forma de miel o también llamada melaza; este es un líquido denso y viscoso de color oscuro y se utiliza generalmente para alimentos concentrados para animales y como suplemento alimenticio para el hombre (Leeson y Summers, 2000).

La melaza posee un 3 % de proteínas, 60 – 63% sacarosa, 3 – 5% de azúcares reductores, 0.4 % de grasas, 9% de cenizas y un 16% de agua (Tellez, 2004; Yépez, 1995). Estos nutrientes pueden ser aprovechados para la producción de biomasa, siendo las levaduras uno de los microorganismos de gran importancia en la actualidad por su capacidad de sintetizar algunas vitaminas, grasas y proteínas a partir de azúcares simples (Pérez, 2011).

El lactosuero se constituye el principal residuo de la industria láctea, pues solo una parte de este es usado para alimentación animal o es procesado, pero el resto es tratado como un desecho; de manera que, aproximadamente, 47 % de las 115 millones de toneladas de lactosuero, producido a nivel mundial, son desechados sin tratamiento previo al ambiente, en ríos, lagos o en el suelo, lo

que además de ocasionar un gran daño, también representa una pérdida significativa de recursos (Guerrero et al., 2012). El no darle un uso adecuado al lactosuero, crea un enorme desperdicio de nutrientes que pueden ser aprovechados en la alimentación humana; se estima que en términos de composición y de valor energético, los sólidos del lactosuero son comparables a la harina de trigo (357 Kcal/100 gr), lo que lo hace un alimento con mucho potencial (Inda, 2000; Laguna, 2011).

Las levaduras necesitan oxígeno, fuentes de carbono orgánico y nitrógeno mineral u orgánico, diversos minerales y una temperatura y pH adecuados, algunas además necesitan de una o varias vitaminas y otros factores de crecimiento (Bilinski et al., 1986; Reed y Nagodawithana, 1991). Aunque la melaza tiene como principal fuente de carbono y energía a la sacarosa (Beudeker et al., 1989) y varios tipos de compuestos nitrogenados como: aminoácidos, purinas y pirimidinas y componentes no metabolizables como 5-metil-citosina, siendo el total de nitrógeno contenido en la melaza de caña de azúcar entre 0,4 al 1,4% (Spencer y Spencer, 1997); este porcentaje no es suficiente para la producción de levaduras; siendo necesario agregar una fuente adicional de nitrógeno.

Entre las principales fuentes de nitrógeno están el amoníaco, sales amónicas, nitratos, harina de soya, sangre deshidratada, solubles de destilería, germinado de cebada,

lactosuero y bagazo de cebada (Trevan, 1990).

Se han realizado estudios de producción de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando como medio de cultivo la melaza diluida para procesos fermentativos con levaduras (Pérez, 2011; Fajardo y Sarmiento 2007), también en agua de coco complementada con biotina (Pérez, 2011), usando residuos de pulpa de *Coffea arabica* L. (Gualtieri et al., 2007). Morimura et al., (1997) afirman que la *S. cerevisiae*, al ser producida en un medio de melaza de caña de azúcar en alta concentración (22 %) a 33 °C, mejora su resistencia a elevadas concentraciones de etanol que es un factor limitante, debido a la producción y acumulación en su estructura celular de elevadas reservas de glucógeno y trehalosa.

En el caso del lactosuero, se puede utilizar directamente como sustrato de desarrollo de cepas de *Saccharomyces* sp. metabolizando la lactosa. Generalmente después de ser hidrolizado a glucosa y galactosa, o bien convertido a ácido láctico (Reed y Nagodawithana, 1991), sirve de medio de cultivo para la producción de *Saccharomyces* sp. (Spreer, 1991).

La base del crecimiento de los microorganismos está en función del medio que le rodea, siendo los factores determinantes: pH, actividad de agua, temperatura. La microbiología predictiva tiene como principal objetivo describir matemáticamente la evolución de microorganismos de origen alimentario influidos por los factores ambientales intrínsecos (pH, actividad de agua) y extrínsecos (temperatura, atmósfera gaseosa). Asimismo, permite cuantificar los efectos de las interacciones entre dos o más factores y determinar la interpolación de combinaciones de factores de control que no han sido estudiados explícitamente (Rodríguez, 2003).

Este estudio persigue el aprovechamiento biotecnológico de la

melaza de caña y el suero lácteo como residuos agroindustriales para la producción de biomasa proveniente del cultivo aeróbico de levaduras del tipo *S. cerevisiae*, cuantificando el crecimiento mediante el modelo matemático de Gompertz y el modelo Logístico.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Materiales y equipos

#### Recepción de materia prima

Se utilizó levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* provenientes del ‘stock’ del laboratorio de Análisis de Suelos de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Trujillo; melaza obtenida como residuo del proceso productivo de azúcar rubia de la Empresa Azucarera “Casa Grande S.A.A.”, lactosuero residual del procesamiento de queso fresco de la Empresa DELBAC S.A.C, agua destilada, fosfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>HPO<sub>4</sub>), sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), uva (*Vitis vinífera* var. Moscatel), ácido cítrico, cámara de Neubauer, microscopio óptico 400x, potenciómetro, refractómetro, alcoholímetro, tubos de ensayo y autoclave. Software STATISTICA 7,0 y MS Excel.

### 2.2 Metodología

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de los Productos Agroindustriales de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), ubicado en la ciudad de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad.

#### Balance de masa

Se realizó el balance de masa en base a los requerimientos nutricionales de la levadura formulando dos medios, uno a base de residuos agroindustriales (melaza + lactosuero) y otro con jugo de uva suplementado con reactivos

químicos. Se reguló el pH de las muestras adicionando ácido cítrico hasta llegar al rango de 4.5-5.0. Luego del mezclado y homogenizado, se autoclavaron los medios a 120°C por 60 minutos.

**Tabla 1.** Balance de masa para la preparación de los medios de cultivo.

Insumo/Cantidad (g)	Medio	
	Caldo Melaza - Lactosuero	Jugo de uva
Melaza	1200	-
Lactosuero	1000	-
Jugo de uva	-	6025
Sulfato de amonio	-	287.57
Fosfato de amonio	390.18	132
Agua destilada	4600	

**Propagación de *Saccharomyces cerevisiae***

Se tomó una cantidad de muestra de levadura “stock” haciendo uso del asa bacteriológica y se inoculó en caldo Sabouraud. 0.1 mL del caldo Sabouraud fueron inoculados en 10 placas Petri (previamente esterilizadas) conteniendo agar. Las placas fueron colocadas dentro de la estufa a 35°C por 24-48 horas para el crecimiento de la levadura.

**Cosecha de *Saccharomyces cerevisiae***

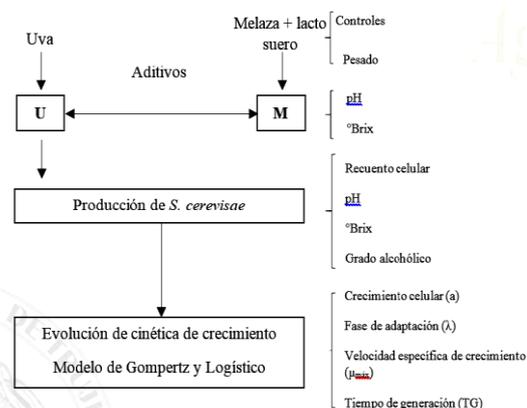
Se cosecharon las colonias de levadura de las placas Petri incubadas y se inocularon directamente sobre los medios de cultivo esterilizados. Para esta etapa se hizo uso del asa Digralski para una mayor disolución.

**Diseño del biorreactor**

Los medios de cultivo fueron puestos en balones de vidrio de 2L de capacidad; se conectó el mecanismo de aireación a este sistema a través de bombas de baja potencia junto a piedras difusoras, éstas fueron desinfectadas e introducidas en los medios de cultivo respectivos. Finalmente se procedió a inocular las levaduras cosechadas. Los sistemas fueron cubiertos con algodón para evitar contaminación externa.

**Medición de crecimiento microbiano**

Se realizaron mediciones cada hora, para lo cual se tomó una muestra 10 mL del cultivo. El crecimiento fue cuantificado empleando la cámara de Neubauer con un microscopio óptico con aumento de 40X; durante la producción de biomasa se controlaron el °Brix y pH.



**Figura 1.** Esquema del desarrollo experimental para evaluar el crecimiento de *S. cerevisiae* en melaza más suero y juego de uva suplementado.

**Modelamiento matemático**

Se usaron las versiones modificadas de los modelos Logístico y de Gompertz propuestas por Zwietering *et al.*, (1990). Las expresiones matemáticas de estos modelos son:

**Modelo de Gompertz**

$$y(t) = y_o + (y_{max} - y_o) \exp\left[ - \exp\left[1 + \mu_{max} \cdot e\left(\frac{\lambda - t}{y_{max} - y_o}\right)\right]\right]$$

**Modelo Logístico**

$$y(t) = y_o + \frac{y_{max} - y_o}{[1 + \exp\left[\frac{4\mu_{max}}{y_{max} - y_o}(\lambda - t) + 2\right]]}$$

Donde:

$y(t) = \ln N(t)$ , siendo  $N(t)$  la densidad bacteriana (cel. mL<sup>-1</sup>) al tiempo “t”.

$y_o = \ln N_o$ , siendo  $N_o$  el valor asintótico inferior y aproximadamente igual a la densidad bacteriana inicial (cel.mL<sup>-1</sup>).

$y_{Max}$  =  $\ln N_{Max}$ , siendo  $N_{Max}$  el valor asintótico superior y aproximadamente igual a la máxima densidad bacteriana ( $\text{cel.mL}^{-1}$ ).

$\mu_{Max}$  = máxima velocidad específica de crecimiento ( $\text{tiempo}^{-1}$ ).

Lo que permitió determinar la cinética de crecimiento a través del crecimiento máximo ( $y_{max}$ ), fase lag o de adaptación ( $\lambda$ ), velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{max}$ ).

Además se calcula el Tiempo de generación (G):  $G = \log 2 / \mu_{max}$

### 3. Resultados y discusión

La determinación de biomasa se obtuvo a partir del conteo de colonias en cámara de Neubauer en un área de  $0.04 \text{ mm}^2$  considerando 9 cuadrantes de  $0.0025 \text{ mm}^2$ .

El coeficiente de variación estimado (CVE), el cual mide la magnitud de la variabilidad de la distribución muestral del estimador, es el indicador del grado de aproximación con que se estiman las características del universo. Hasta del 7%, es precisa; entre el 8 y el 14% significa que existe una precisión aceptable; entre el 15% y 20% precisión regular y por lo tanto se debe utilizar con precaución; mientras que mayor del 30% indica que la estimación es poco precisa y por lo tanto se recomienda utilizarla sólo con fines descriptivos (tendencias no niveles).

En base a los resultados se obtuvo un CVE promedio para el recuento de colonias de 17,547 y 15,709 unidades/mL para el medio melaza + lactosuero y para el medio de uva suplementado respectivamente siendo catalogado como determinación de biomasa con precisión regular, teniendo en consideración que se eliminaron los datos que sobrepasaban el rango de colonias permisibles de 30 a 300.

De los resultados de determinación de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo valores de  $y_{max}$  de 7.811 y 7.85

cel./mL de crecimiento en caldo melaza más lactosuero y medio de uva suplementado respectivamente. Mientras que el valor inicial de la biomasa fue de 6.875 cel/mL en ambos casos.

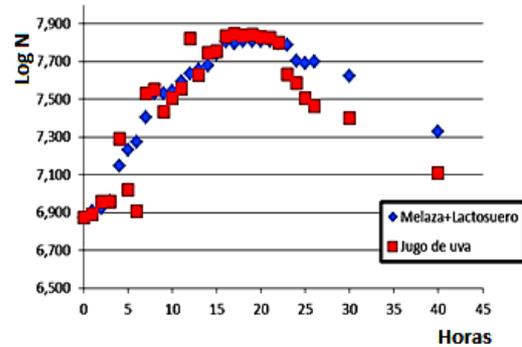


Figura 2. Curva de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en dos medios de cultivo.

En la figura 2 se presentan las curvas de crecimiento promedio de las levaduras para los dos medios de cultivo, se puede distinguir la fase lag o de adaptación de los microorganismos al medio (aproximadamente hasta las 4 horas). También se observa el momento en que se llega a la fase estacionaria, donde no se observan cambios aparentes en el crecimiento con respecto al tiempo, lo que indica que no se está generando más masa celular, esto a partir de las 17 horas aproximadamente para ambos casos. Sin embargo, Gimeno y Cosano (2004) reportan un tiempo de 24 horas para alcanzar la fase estacionaria de *Saccharomyces cerevisiae* en suero de queso.

Buitrago y Tenjo (2007) observaron que la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* inoculada en caldo YPG consume la fuente de carbono que, en este caso es la glucosa desde la hora “0” hasta la hora “8” y a partir de esta hora el sustrato se agota en su totalidad; teniendo en cuenta que la glucosa es un sustrato de fácil asimilación. También reportan que desde la hora “16” hasta la hora “20” la levadura entra a la fase estacionaria.

Las levaduras iniciaron su etapa logarítmica (crecimiento exponencial) a las 4 horas de iniciado el proceso de latencia en el caso del medio melaza más lactosuero; y en el caso del medio con jugo de uva suplementado esta etapa inició a las 5 horas. Sin embargo, Ospina y Palacios (1994), encontraron que el tiempo de inicio de la duplicación para las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* está entre 1 y 3 horas. Esta demora puede deberse a que el tiempo de acondicionamiento del inóculo fue de 2 días, según Garzón y Hernández (2009), el tiempo óptimo de acondicionamiento es de 4 días, esto con la finalidad de reducir el tiempo de la fase de latencia.

Por otro lado, la concentración de carbohidratos de nuestro medio de cultivo melaza + lactosuero fue inferior a 40%, de esta manera no se disminuyó la asimilación del nitrógeno y se evitó la producción de productos nocivos para las levaduras. La melaza pura a una concentración de 20% (p/v) representa una buena fuente nutricional para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* ya que cuenta con la mayoría de los macroelementos esenciales para estos microorganismos y la adición de fuentes de fosfato, como el fosfato monobásico de potasio y fosfato dibásico de potasio; e incluso en combinación con el nitrógeno, como el fosfato de amonio también influyen en el crecimiento de *S. cerevisiae* ya que suplementan la deficiencia que muchas veces presentan las melazas en fosforo y nitrógeno. El nivel de azúcar presente es una de las razones que convierte al

suero en un sustrato óptimo para la generación de biomasa.

En la tabla 2 podemos observar los parámetros de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en caldo melaza + lactosuero y medio jugo de uva suplementado, obtenidos mediante los modelos de Gompertz y Logístico. Se induce que el crecimiento microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* se ajusta a ambos modelos matemáticos por el elevado valor de  $R^2$  que bordea el 97%.

En el medio de cultivo de jugo de uva suplementado se obtuvo un ligero valor mayor de biomasa, un considerable mayor valor de tiempo de latencia ( $\lambda$ ), similar velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) y un menor valor de tiempo de generación (G) en comparación con los valores obtenidos con el medio de melaza más lactosuero. Así mismo, se aprecia la relación de que a mayor velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) corresponde un menor tiempo de generación (G) para ambos medios de cultivo en los dos modelos matemáticos analizados.

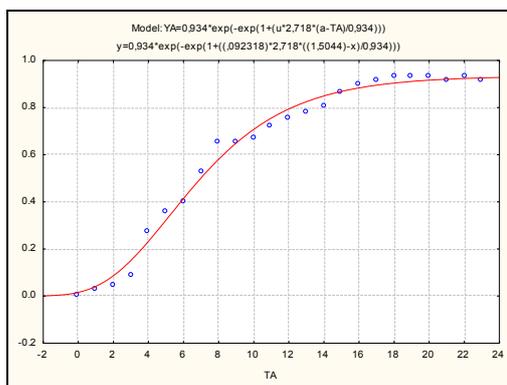
Comparando ambos modelos matemáticos se obtuvo valores muy similares para los respectivos parámetros cinéticos analizados dentro de cada medio de cultivo.

En las figuras 3 y 4 se muestran gráficamente el modelamiento mediante Gompertz para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en medio de cultivo de caldo melaza + lactosuero y en medio de jugo de uva suplementado respectivamente.

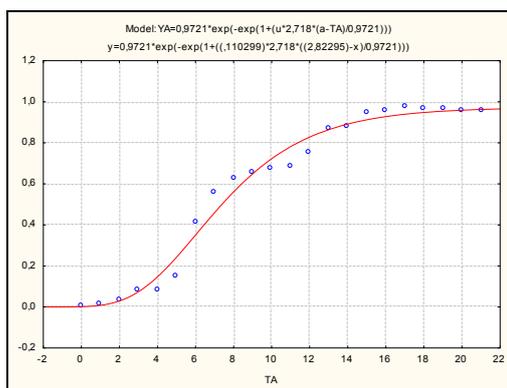
**Tabla 2.** Parámetros de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en caldo melaza más lactosuero y jugo de uva.

Modelo	Gompertz				Logístico			
	$\lambda$ [h]	$\mu_{\text{máx}}$ [ $\text{h}^{-1}$ ]	G [h]	$R^2$	$\lambda$ [h]	$\mu_{\text{máx}}$ [ $\text{h}^{-1}$ ]	G [h]	$R^2$
M + L	1,5044	0,0923	3,2608	0.9896	1,5596	0,0869	3,4631	0.9774
Uva	2,8230	0,1103	2,7292	0.9812	2,8583	0,1033	2,9134	0.9709

M+L: Medio melaza-lactosuero,  $\lambda$  = Tiempo de latencia,  $\mu_{\text{máx}}$  = Velocidad específica de crecimiento, G= tiempo de generación.



**Figura 3.** Modelo de Gompertz para crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en caldo melaza + lactosuero.

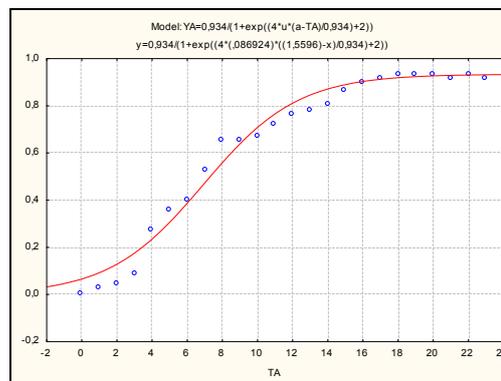


**Figura 4.** Modelo de Gompertz para crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en medio de cultivo de jugo de uva.

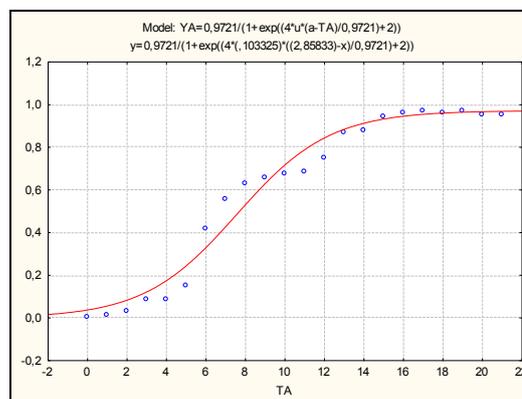
En las figuras 5 y 6 se muestran gráficamente el modelamiento Logístico para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en medio de cultivo de caldo melaza + lactosuero y en medio de jugo de uva suplementado respectivamente.

Castro et al., (2008) aplicaron diferentes modelos sigmoidales al crecimiento de *Lactococcus*, realizando un análisis con la función de Gompertz, el modelo Logístico, el modelo de Stannard y Richards; encontrando similitud de ajuste en los modelos aplicados, pero llegaron a considerar a la función de Gompertz y el modelo Logístico como los mejores para modelar y predecir el crecimiento del microorganismo en estudio en un medio de leche estéril. Según Rodríguez (2003), la función de Gompertz ha sido la curva sigmoideal más ampliamente utilizada en microbiología predictiva debido a su

simplicidad y efectividad. El modelo Logístico se diferencia de la función de Gompertz por originar un gráfico de tipo simétrico.



**Figura 5.** Modelo logístico para crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en caldo melaza-lactosuero.



**Figura 6.** Modelo logístico para crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en medio de cultivo de jugo de uva.

La ventaja la posee el modelo de Gompertz porque permite obtener los parámetros de la cinética de crecimiento de manera directa. Todos los modelos son simplificaciones que representan los complejos procesos bioquímicos que controlan el crecimiento microbiano. Se menciona que un modelo debe ser a la vez suficientemente complejo para aportar una predicción útil, pero lo bastante simple como para poder ser utilizable. Este equilibrio entre simplicidad y complejidad significa que no existe un modelo óptimo para todas las situaciones (Gimeno y Cosano, 2004).

**Tabla 3.** Análisis de varianza para los parámetros cinéticos de crecimiento *Saccharomyces cerevisiae* modelado por Gompertz en caldo melaza más lactosuero y jugo de uva suplementado.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,1080	1	0,1080	0,044	0,8438	7,7086
Dentro de los grupos	9,7814	4	2,4454			
Total	9,8894	5				

**Tabla 4.** Análisis de varianza para los parámetros cinéticos de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* modelado por Logístico en caldo melaza + lactosuero y jugo de uva suplementado.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0976	1	0,0976	0,0359	0,8590	7,7086
Dentro de los grupos	10,8936	4	2,7234			
Total	10,9912	5				

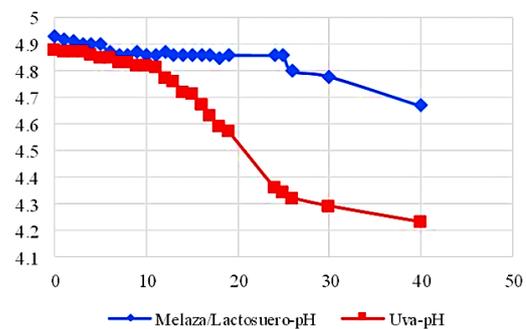
En la tabla 3, el valor de “F” es menor que el “F crítico”, interpretándose que no existe diferencia significativa entre los parámetros cinéticos del modelo de Gompertz respecto al tipo de medio de cultivo, es decir que ambos son estadísticamente válidos sin importar la composición del medio.

De la tabla 4, se aprecia que el valor de “F” es menor que el “F crítico”, interpretando que no existe diferencia significativa entre los parámetros cinéticos del modelo Logístico respecto al tipo de medio de cultivo, es decir que ambos son estadísticamente válidos sin importar la composición del medio.

**Parámetros fisicoquímicos**

En la figura 7 se observa la disminución del pH en los medios utilizados. Ambos medios de cultivo presentan valores de pH dentro del rango establecido para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, que se encuentra aproximadamente entre 4.0 y 5.0 (Fajardo y Sarmiento, 2007). En este rango óptimo, las levaduras tienen mayor velocidad de crecimiento y rendimiento. El valor de pH inicial para los medios de jugo de uva suplementado y melaza + lactosuero son, 4.88 y 4.93, respectivamente. Se aprecia notablemente el descenso del pH en el

medio enriquecido con jugo de uva, a diferencia del medio con melaza + lactosuero (la melaza de caña de azúcar tiene un pH entre 5.5 y 6.5) que se mantiene relativamente estable, esto debido a que la melaza contiene un material estabilizador de pH (Buffer).

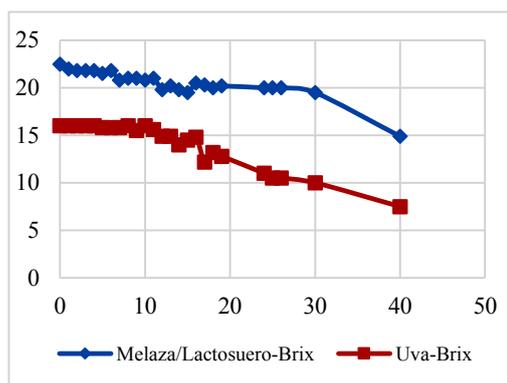


**Figura 7.** Variación del pH del medio de cultivo durante el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae*.

La acción estabilizadora del pH tiene efecto sobre la melaza para resistir la adición de ácidos o álcalis sin cambiar su naturaleza acida o básica del mismo, esta acción estabilizadora depende del contenido de azúcares y de las características propias de la melaza (Swan y Karalazos, 1990).

Analizando el comportamiento de las curvas, se aprecia que en ambos medios

los valores de pH descendieron exponencialmente hasta la hora “24”; en estas etapas (latencia, exponencial y estacionaria) los sustratos forman productos en especial ácidos que influyen en el crecimiento celular, producción enzimática y utilización de glucosa (Fajardo y Sarmiento, 2007); y a partir de la hora “25” el pH tiene un comportamiento lineal; es decir tiende a estabilizarse. Según Ríos (2005), en el proceso de fermentación, el pH tiende a disminuir debido a la producción de ácidos, formados al tomar los nitrógenos de los aminoácidos perdiendo su carácter anfótero. Este concepto explica que las levaduras consumieron la fuente nitrogenada (fosfato de amonio) liberando ácidos y acidificando el medio hasta que tendió a estabilizarse por escasos del sustrato.



**Figura 8.** Variación del ° Brix de los medios de cultivo durante el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae*.

La cantidad de azúcares en el medio genera un limitante para el proceso fermentativo (Garzón y Hernández, 2009). A medida que transcurre el tiempo, la cantidad de levaduras aumenta debido a las condiciones favorables del medio y la caída del °Brix se hace más notoria para ambos medios.

En la figura 8 se observa el comportamiento exponencial en la reducción del °Brix hasta la hora “24” (etapa latencia, exponencial y estacionaria), debido a la presencia de la

enzima invertasa que hace que la levadura consuma sustrato a medida que actúa sobre la sacarosa produciendo glucosa y fructuosa que son azúcares reductores, los cuales son más simples y la levadura puede asimilarlos con mayor facilidad (Kazuhiko y Rozo, 1995).

En cuanto al grado alcohólico el medio melaza + lactosuero presentó un valor de 21.5% (%v/v), mientras que el medio con jugo de uva suplementado un 11% (%v/v). En un estudio realizado por Garzón y Hernández (2009), reportan que la concentración de alcohol es proporcional a la cantidad de azúcares en el medio, mostrando mayor valor el que presenta mayor °Brix.

Según Tomasso (2004), las levaduras presentan cierta resistencia a las concentraciones de alcohol que se producen durante la fermentación, debido a que el etanol, inhibe el transporte de D-xilosa, amonio, glicina y algunos aminoácidos, así como afecta la función y estabilidad de algunas enzimas citoplasmáticas como la hexoquinasa, debido a que a concentraciones críticas de etanol, se presenta la formación de un complejo hexoquinasa-etanol el cual puede detener la reacción glucosa a glucosa-6 fosfato. En conclusión la tolerancia al alcohol depende de la habilidad de la célula para exportar el etanol del interior al medio externo, un proceso que depende de la composición de la membrana y de la fluidez de la misma.

Un incremento en la concentración de etanol supone un obstáculo a medida que pase la fermentación lo cual será un obstáculo para el crecimiento y desarrollo microbiano por los efectos negativos, disminuyendo su calidad y selectividad, por lo que las levaduras en un medio con alta concentración alcohólica pierden propiedades funcionales y no pueden retener cofactores y coenzimas con alta concentración alcohólica. Este fenómeno se manifiesta en los resultados de crecimiento microbiano;

donde el medio de cultivo de jugo de uva suplementado al tener menos sustrato disponible ( $^{\circ}$ Brix inicial =16) produce con mayor rapidez alcohol y se limita su crecimiento; generando así mayor rapidez para el alcance de la fase de muerte, esto se puede verificar en la curva de crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* (figura 2).

#### 4. Conclusiones

Se determinó que tanto el medio de cultivo formulado a base de melaza de caña más lactosuero como el de jugo de uva suplementado sirvieron como un excelente sustrato para la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Para ajustar los valores experimentales de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* sobre medios de cultivo a base de melaza de caña + lactosuero y medio de jugo de uva suplementado, pueden usarse indistintamente el Modelo de Gompertz ( $R^2 = 0.9896$  y  $0.9812$ ) o el Modelo Logístico ( $R^2 = 0.9774$  y  $0.9709$ ) respectivamente; puesto que ambos son estadísticamente válidos y sus ajustes no difieren significativamente.

#### Referencias

Beudeker, R.; Van Dam, H.; Van Der Plaat, J. y Vellenga, K. 1989. Developments in baker's yeast production. En *Yeast Biotechnology and biocatalysis*. Verachter, H. y De Mot, R (eds.) Marcel Dekker Inc. New York, p.103-146

Bilinski, C.; Russell, J. y G. Steward. 1986. Analysis of sporulation in brewers' yeast: induction of tetrad formation. *J. Institute Brew*, 92:594-598.

Buitrago, J.; Tenjo, D. 2007. Evaluación de un sustrato vegetal obtenido a partir de residuos vegetales de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) con un consorcio celulítico. Tesis de pregrado Microbiología. Bogotá, Colombia.

Castro, G.; Valbuena, E.; Sánchez, E; Briñez, W.; Vera, H.; Leal, M. 2008. Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Revista Científica. FCV- LUZ*. XVIII (5): 582-588.

Fajardo, E.; Sarmiento, S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencia Básicas. Pontificia Universidad de Javeriana. Bogotá. Colombia.

Garzón, C.; Hernández, L. 2009. Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces cerevisiae* silvestre, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 y *Candida utilis* ATCC 9950. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Escuela de Tecnología Química. Química Industrial. Pereira. 93p.

Gimeno, R.; Cosano, G. 2004. Modelización predictiva del desarrollo bacteriano en los alimentos. *Anales. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental* 17 (1): 61-78.

Guerrero, W., Castilla, P., Cárdenas, K., Gómez, C. y Castro, J. 2012. Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores. *Centro de Investigaciones Químicas, ICBI, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México Tecnología Química* 33(1): 99-106

Inda, A. 2000. Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de la Quesería. Capítulo IV. Opciones para darle valor agregado al lactosuero de quesería. Editado por Organización de los Estados Americanos (OEA). División de Ciencia y Tecnología: pp. 63-93. México.

Kazuhiko, T.; Rozo, T. 1995. Factors affecting the ethanol productivity of yeast in molasses. *Journal of fermentation and Bioengineering*. Vol. 79, N° 5. 449-452p.

Lagua, H. 2011. Elaboración de una bebida nutritiva a partir de la pulpa de maracuyá (*Pasiflora incarnata*), y suero láctico, en la planta procesadora de frutas y hortalizas facultad de ciencias agropecuarias, recursos naturales y del ambiente, escuela de ingeniería agroindustrial. La Universidad Estatal de bolívar. Guaranda – Ecuador.

Morimura, S.; Ya Ling, Z. y Kida, K. 1997. Ethanol production by repeated-batch fermentation at high temperatura in a molasses médium containing a high concentration of total sugar by a thermotolerant flocculating yeast with improved salt-tolerance *J. Fermen. Bioeng.* 83: 271-274

Pérez, J. 2011. Evaluación del efecto de diferentes diluciones de agua de coco suplementada con biotina, para la producción de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) a nivel de matraz y en bioreactor de tanque agitado. Tesis. Universidad de Vera Cruz. Córdoba. Argentina.

- Reed, G.; Nagodawthana, T. 1991. Yeasts technology. 2a ed. AVI. 454.
- Ríos, C. 2005. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel *Apis mellifera*. Estación experimental apícola Cuba.
- Rodríguez, M. 2003. Desarrollo y Validación de modelos matemáticos para la predicción de vida comercial de productos cárnicos. Tesis Doctoral. Departamento de Bromatología y Tecnología de Alimentos. Universidad de Córdoba. Disponible en: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/218/13207957.pdf?sequence=1>.
- Spencer, J.; Spencer, D. 1997. Yeasts in natural and artificial habitats. Ed. Springer, Berlin, 381 pp.
- Spreer, E. 1991. Lactología industrial. 6a ed. Ed. Acribia, Zaragoza, p. 527-548.
- Swan, H. y Karalazos, A. 1990. Las melazas y sus derivados. Revista Tecnología. Geplacea. N° 19. España. 78-82p.
- Tomasso, M. 2004. Tolerancia de las levaduras al etanol. Universidad de la República de Uruguay. Facultad de Química.
- Yépez, Y. 1995. Selección de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* con alta productividad de etanol y que tolere mayores niveles de azúcar que los usados en la Planta Alcoquímica Sucromiles S.A. Tesis. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. pp. 34 – 38.
- Zwietering, M., Rombouts, F. y Van't Riet, A. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. Appl. Environ. Microbiol. 56 (6), 1875-1881.

Agroind Sci  
Agroind Sci  
www.agsci.com

