

**OBTENCIÓN DE CULTIVO EN MASA DE LEVADURA
(*Saccharomyces spp*) AISLADA DE MAÍZ (*Zea mays*) MOLIDO,
UTILIZANDO UN BIORREACTOR ARTESANAL**

**(OBTAINING GROWING IN YEAST MASS (*Saccharomyces spp*) ISOLATED FROM
MAIZE (*Zea mays*) GROUND, USING AN ARTISAN BIOREACTOR)**

Juan López, Jesús Nieves, Miguel Torrealba.

Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora” UNELLEZ. Programa
Ciencias del Agro y del Mar. San Carlos-Estado Cojedes, Venezuela.

juan_carmona_05@hotmail.com/ nievesj592@gmail.com/ torrealbap38@hotmail.com.

Recibido: 06-02-2017/ Aceptado: 21-02-2018

RESUMEN

El presente trabajo de grado está enmarcado bajo la modalidad de proyecto de investigación de carácter experimental y tiene como objetivo principal obtener un cultivo en masa de levadura (*Saccharomyces spp*) aislada del maíz (*Zea mays*) molido, utilizando un biorreactor artesanal. En primer lugar se realizó un estudio para determinar la carga microbiana inicial del maíz lo cual dio como resultado *Bacilos, Micrococcus, Sarcina* como también mohos y levaduras. Seguidamente se realizó el aislamiento de la levadura mediante caldo extracto de malta y almacenado por 4 días dando un crecimiento de 10^7 ufc/ml. Se diseñó un biorreactor artesanal para producir biomasa a temperatura ambiente y a gran escala de 14 litros. Partiendo de esa levadura inicial se procedió a realizar ensayos en el biorreactor artesanal con el fin de aumentar esos niveles dando como resultado más amplio de 1.9×10^9 ufc/ml. Se elaboró un pan dulce con los niveles de 10^7 ufc/ml dando como resultado no hubo crecimiento de fermentación por la adición no adecuada de harina y eso permitió que el pan no haya sido el característico, con 1.9×10^9 ufc/ml hubo crecimiento de fermentación, lo cual demuestra una respuesta satisfactoria, ya que el pan mantuvo el sabor más dulce por el uso de melaza y la textura fue la característica.

Palabras claves: Levaduras, biorreactor artesanal, biomasa.

SUMMARY

This degree work is framed in the form of experimental research project character and its main objective obtaining a mass culture of yeast (*Saccharomyces spp*) isolated from maize (*Zea mays*) ground using a bioreactor craft. First, a study was conducted to determine the initial microbial load of corn which resulted *Bacilos*, *Micrococcu*, *Sarcina* as molds and yeasts. Following isolation of yeast was performed using malt extract and stored for 4 days giving a growth of 10^7 cfu / ml broth. a craft bioreactor was designed to produce biomass at room temperature and 14-liter scale. Starting from this initial yeast proceeded to conduct tests in the bioreactor artisan to increase these levels giving wider as a result of 1.9×10^9 cfu / ml. A sweet bread with levels of 10^7 cfu / ml resulting was drawn there was no growth of fermentation by the addition inadequate flour and that allowed the bread was not the characteristic with 1.9×10^9 cfu / ml there was growth of fermentation, which demonstrates a satisfactory response as bread sweeter taste maintained by use of molasses and texture was characteristic.

Keywords: Yeast, craft bioreactor, biomass.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación, trata de la obtención de cultivo en masa de levadura (*Saccharomyces spp*) aislada de maíz (*Zea mays*) molido, utilizando un biorreactor artesanal que ayudará a los pequeños y medianos productores a obtener una materia prima que es la levadura, debido a la escasez que actualmente está atravesando ese gremio. En esta investigación el objetivo general fue obtener levadura (*Saccharomyces spp*) aislada del maíz molido (*Zea mays*) utilizando un biorreactor artesanal. La metodología para la obtención de levadura aislada del maíz es de bajo costo, relativamente fácil y se pueden adecuar los volúmenes a las necesidades de cada productor. Se hizo el proceso de aislamiento de la levadura por medio de siembra en caldo extracto de malta, resultando que la levadura encontrada pertenece al género de la *Saccharomyces cerevisiae*; lográndose aumentar sus niveles exponenciales de 10^3 a 10^7 . Partiendo de esta levadura inicial se procedió a utilizar el biorreactor artesanal con el fin de aumentar sus niveles exponencial a 10^9 . Luego de este proceso se realizaron panes dulces con levadura de 10^7 y 10^9 para evaluar la acción metabólica de ambas población de levadura en biomasa.

Planteamiento del problema

La levadura es la principal materia prima en la obtención de productos resultantes de la fermentación de cereales, siendo muy requerida en el mercado, haciendo incrementar sus costos considerablemente, más en Venezuela por su actual economía inflacionaria. Es por estas razones que se puede presentar este rubro como una alternativa sustentable y sostenible para su uso como en la fabricación de biomasa para el cultivo de levadura (*Saccharomyces spp*) aislada del maíz utilizando para ello un biorreactor artesanal. Esta propuesta se basa en que actualmente en Venezuela la levadura (*Saccharomyces spp*) comercial es difícil de obtener por la problemática que ocurre en el país desde el inicio del 2014. De acuerdo a la Federación Venezolana de Panaderos (FEVIPAN), citado por García (2015), los comerciantes (panaderías, repostería, entre otros) se han dado a la tarea de armar estrategias para adquirir su materia prima, que en su esencia es la levadura. Estos productores afirman que las panaderías de Maracaibo, estado Zulia, reducen producción por falta de harina y levaduras, donde requieren para poder funcionar adecuadamente unas 8500 toneladas a nivel nacional, pero hoy día se tiene una escasez cercana al 60%.

A nivel nacional los pequeños y medianos productores no cuentan de manera accesible con esta materia prima, debido a que las grandes empresas obtienen la mayor parte de adquisición de dicho producto, haciendo que afecte su economía de sustento y así conlleva a estos panaderos artesanales a tener un gasto de inversión más elevado, que a la vez se refleja en los precios para el consumidor al momento de comprar un producto terminado. Por tal motivo se toma la iniciativa de diseñar un biorreactor de manera artesanal para obtener levadura (*Saccharomyces spp*) aislada del maíz (*Zea mays*) de manera que se le enseñe a los pequeños productores su uso y así poder presentarle una alternativa de adquirir levadura para sus diferentes aplicaciones.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Levaduras

Son hongos unicelulares durante todo o parte de su ciclo vegetativo. Algunas de ellas se conocen desde hace más de 4.300 años por su poder fermentativo. Desde el punto de vista taxonómico, es un grupo de microorganismo muy heterogéneo, que comprende 60 géneros y unas 500 especies (Kreger- Van Rij, 1984). La forma de las levaduras puede ser desde esférica a ovoide, alimonada, piriforme, cilíndrica, triangular, e incluso alargada, constituyendo un verdadero micelio o un falso micelio. También se diferencia en cuanto a su tamaño. La utilización de ellas es la base de un gran número de procesos fermentativos y de productos resultantes, se pueden clasificar en diferentes grupos: levaduras de panadería y productos de panificación, levaduras de cervecería y cervezas, levaduras de vinificación y vino, levaduras de destilación y licores, levaduras de alimento, productos derivados de la levaduras y etanol y carburante (Reed, 1981).

La mayoría de las levaduras se reproducen asexualmente por gemación multicelular o por gemación polar, mecanismo de reproducción mediante el cual una porción de protoplasma sobresale de la pared de la célula de la levadura y forma una protuberancia; esta protuberancia o yema, aumenta de tamaño y finalmente se desprende como célula de levadura neoformada (Frazier y Westhoff, 2000).

Biorreactor

Un biorreactor ofrece una posibilidad para proporcionar un entorno controlado de manera óptima para los procesos de fermentación microbiana, una condición necesaria para el rendimiento óptimo (Williams, 2002). Con esto, se puede alterar específicamente los flujos metabólicos y desviar recursos de las células a las vías más deseables, mientras que la inhibición de los no deseados. Existen tres modos de operación de un biorreactor, caracterizados principalmente por la forma en el que sustrato es alimentado al tanque en los modos siguiente: modo discontinuo, modo semicontinuo y modo continuo (Moreno y Bayo, 1996):

Modo discontinuo: Se refiere a que las células se cultivan en un recipiente con una concentración inicial, sin que ésta sea alterada por nutrientes adicionales o el lavado por lo que el volumen permanece constante y solo las condiciones ambientales del medio son controlados por el operador. El proceso finaliza cuando todo el sustrato es consumido por la biomasa, esta forma de cultivo es simple y se utiliza extensamente tanto en laboratorio como escala industrial.

Modo semicontinuo: Los nutrientes son alimentados al biorreactor de forma continua o semicontinua mientras que no hay efluente en el sistema. Según sea el objetivo de la operación, la adición intermitente del sustrato mejora la productividad de la fermentación manteniendo baja la concentración del sustrato. Un proceso de este tipo está restringido por la capacidad volumétrica del reactor.

Modo continuo: Consiste en alimentar nutrientes y retirar productos continuamente de un biorreactor bajo estas condiciones para alcanzar un estado estacionario, donde no existe variación con el tiempo del volumen del biorreactor. De esta manera se puede utilizar para producir sustancias biológicas a condiciones óptimas y para estudios fisiológicos.

METODOLOGÍA

La investigación que se realizó es del tipo cuantitativa, con un nivel exploratorio, diseño no experimental; ya que se quiere llevar a un conocimiento concreto de las condiciones de obtención de levadura, por lo que una vez definido los factores operativos en las pruebas pilotos, donde se midieron los efectos metabólicos elaborando un pan dulce, se comparó con un pan dulce comercial. No se llevó en efecto un diseño experimental porque no se contó con el tiempo necesario y el recurso para abarcar todos los tratamientos. A tal efecto, se realizaron un conjunto de actividades preliminares que sirvieron de apoyo para definir la cantidad de °Brix, pH, velocidad del motor de agitación a fin de obtener una biomasa final. El trabajo de investigación se desarrolló de las siguientes fases: **I:** Conocer la carga microbiana inicial del maíz (*Zea mays*). **II:** Aislar la levadura presente en el maíz mediante siembra en caldo extracto de malta. **III:** Diseñar un biorreactor artesanal a base de

materiales recuperados de otros equipos. **IV:** Incrementar la población de levadura aislada del maíz en el biorreactor artesanal. **V:** Evaluación metabólica de la levadura.

RESULTADOS OBTENIDOS

Fase I: Carga microbiana inicial

De los análisis microbiológicos de la masa de maíz se determinó la presencia de diferentes microorganismos de mohos y levaduras del tipo *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*; y bacterias del género *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*.

Fase II: Aislamiento de levadura del maíz

Para obtener levadura se tomó la muestra 1 y se agregó en 9 ml de caldo extracto de malta, se dejó por 24 horas, luego esos 10 ml se agregaron en un frasco de 90 ml del mismo caldo para obtener la cantidad de 100 ml, se dejó refrigerada por 1 día y se agregó en una fiola con 900 ml para obtener un total de 1 litro de caldo extracto de malta con la levadura agregándole ácido tartárico al 10% con el fin de obtener un pH de 4.5 para inhibir el resto de bacterias y mantener solo la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Se precedió hacer siembra en agar papa dextrosa para obtener las colonias inicial dando como resultado 2.2×10^7 ufc/gr

Fase III: Diseño del biorreactor artesanal

Se construye el biorreactor artesanal para trabajar a mayor escala con el fin de aumentar las ufc inicial de la levadura a 10^9 ufc/gr, de lo cual se procedió a trabajar con el equipo en el laboratorio de investigación. Se utilizaron materiales de reciclaje como bidón y agitador de plástico, motor de bajas revoluciones, compresor de bajo volumen de aire; todo ello en un ambiente aséptico, ensamblado siguiendo las pautas presentadas por Moreno y Bayo (ob. cit). En términos generales, el equipo funcionó adecuadamente, proporcionando las condiciones a la masa microbiana inoculada en el sustrato.

Fase IV: Incrementar la población microbiana

Luego de proceder a trabajar con el equipo artesanal se obtuvo los siguientes resultados de °Brix, pH y de las unidades formadoras de colonias, presentados en la tabla 1.

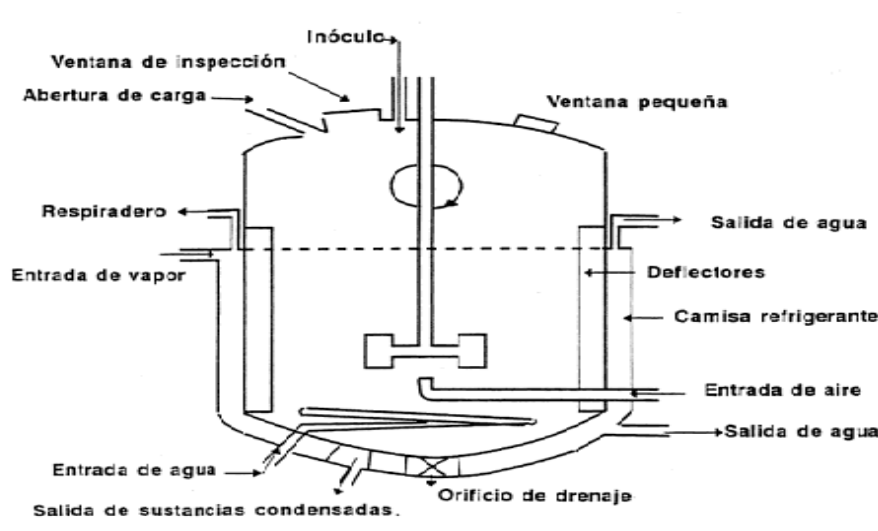


Figura 1. Esquema general de un biorreactor.

Fuente: Moreno y Bayo (ob. cit).

En la tabla se puede observar como en un espacio de siete (7) horas, en condiciones operativas adecuadas: aerobiosis, temperatura de 25 °C, pH entre 4,0 y 4,5; la población inicial de levaduras aisladas del maíz pudo alcanzar niveles de 10^9 ; lo que significa que entra rápidamente en la fase exponencial o logarítmica de crecimiento microbiano, incrementándose en tres (3) ciclos logarítmicos, pasando de millones a miles de millones por gramo.

Tabla 1. Incremento de la población microbiana.

Hora	°Brix	pH	Población microbiana (ufc/ml)
1	25.2	4.07	$3,0 \times 10^6$
4	20.4	4.03	$2,2 \times 10^7$
7	21	4.45	$1,7 \times 10^8$
8	23	4.38	$1,9 \times 10^9$
9	22	4.45	$1,4 \times 10^9$

Fuente: Determinaciones propias.

Esta situación es favorable porque se convierte en una alternativa económicamente útil que se le puede ofrecer a los interesados, en una presentación líquida, de fácil manejo y conservación.

Fase V: Evaluación metabólica de la levadura

Para determinar la calidad de la biomasa de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) obtenida en el biorreactor artesanal, se prepararon panes de variedad dulce, los cuales presentaron características organolépticas favorables; entre ellas destacaron textura firme y de buena miga. Dentro de los atributos de la masa se tiene una esponjosidad estable, no pegajosa, de excelente amasado, que posteriormente generó un producto agradable al consumidor.

CONCLUSIONES

En el proceso de aislamiento de la levadura del maíz aumenta sus niveles de ufc/ml llegando a niveles de 2.2×10^7 en 4 días de almacenamiento. Con el uso del biorreactor artesanal se detalló que en condiciones adecuadas, las levaduras aisladas del maíz aumentaron sus niveles de reproducción siendo éste el más alto con 1.9×10^9 . Por otro lado, se elaboró un pan dulce con la levadura inicial de 10^9 ufc/ml, dando como resultado que hubo un crecimiento favorable de la masa, lo que indica que fermenta adecuadamente.

REFERENCIAS CONSULTADAS

- Frazier W y Westhoff D (2000) microbiología de los alimentos. Zaragoza-España. ACRIBIA, S.A. P.41-50
- García M (abril, 2015). Panaderías de Maracaibo reducen producción por falta de harina y levadura. Noticiaaldia(En línea) Disponible en URL: <http://noticiaaldia.com/2015/04/panaderias-de-maracaibo-reducen-produccion-por-falta-de-harina-y-levadura/> (29 mayo, 2015)
- Kreger-Van Rij, J (1984). La levadura: un estudio taxonómico. Asterdam, Holanda. Elsevier.
- Moreno G y Bayo B (1996) Diseño de Biorreactores y enzimología. España: EDITUM. P.76-91.

Reed, T. (1981) Handbook of biomass downdraft gasifier engine systems.

Williams, J (2002). Keys to bioreactor selection. Chemical Engineering Magazine pp. 34-46.