

Análisis estadístico en la producción de proteína unicelular a partir de la fermentación del suero ácido de quesería



Statistical analysis in the production of unicellular protein from the fermentation of acid whey of cheese factory

Jessica Alexandra Marcatoma Tixi.¹, Sonia Lourdes Rodas Espinoza.², Luis Heriberto Mármol Cuadrado.³, Paola Andrea Galán Robalino.⁴

Recibido:04-10-2020 / Revisado: 27-10-2020 / Aceptado: 14-11-2020/ Publicado: 05-12-2020

Resumen

DOI: <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v3i4.1.1468>

La investigación tuvo como objetivo determinar el rendimiento máximo de proteína unicelular en función de tres tipos de suero de leche: suero a base de queso mozzarella, queso fresco y requesón, tras un proceso de fermentación que utilizó levaduras del género *Kluyveromyces Marxianus* en conjunto con la nutrición de minerales como sulfato de amonio, sulfato monopotásico y magnesio. El proceso de fermentación para la obtención de biomasa se mantiene a una temperatura de 39°C y luego de 72 horas se logra maximizar el porcentaje de proteína unicelular en las muestras analizadas. Los resultados arrojados por el método de Kjeldahl muestran la presencia de 6,95; 6,45 y 10,4% (N*6.38) de proteína en los sueros de queso mozzarella, requesón y fresco respectivamente, el suero de queso fresco es seleccionado como el mejor tratamiento para la obtención de este nutriente que permite a la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica incorporarla en nuevos productos funcionales que beneficien a la salud de quienes la consumen.

Palabras Claves: Suero de leche, Fermentación, Proteína, Levadura, t de studen, DBCA

¹Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Riobamba, Ecuador, jessica.marcatoma@unach.edu.ec, <https://orcid.org/0000-0001-9531-3234>

² Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Riobamba, Ecuador, srodas@unach.edu.ec <https://orcid.org/0000-0003-1555-6688>

³ Lácteos San Salvador, Riobamba, Ecuador, luismarmol2103@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1456-4945>

⁴ Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Riobamba, Ecuador, .galan@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-2626-4210pau1995>

Abstract

The study aimed to determine the maximum yield of unicellular protein based on three types of whey: whey based on mozzarella cheese, fresh cheese and cottage cheese, after a fermentation process that uses yeasts of the genus *Kluyveromyces Marxianus* in conjunction with the nutrition of minerals such as ammonium sulfate, monopotassium sulfate and magnesium. Obtaining biomass during fermentation is kept at a temperature of 39 ° C and after 72 hours it is possible to maximize the percentage of unicellular protein in the samples studied. The results obtained by the Kjeldahl method show the presence of 6.95; 6.45 and 10.4% (N * 6.38) of protein in mozzarella, cottage cheese and fresh cheese whey respectively, fresh cheese whey is selected as the best treatment to obtain this nutrient that facilitates the food industry , cosmetics and pharmaceuticals incorporate it into new functional products that benefit the health of consumers.

Key Words: Buttermilk, Fermentation, Protein, Yeast, t de studen, DBCA

Introducción

En la actualidad la industria láctea se posesiona como uno de los sectores más fructíferos alrededor de la escala mundial, debido a la producción masiva de leche, desde el punto de vista global la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) indica que la producción ha aumentado en más del 59 por ciento, pasando de 530 millones de toneladas en 1988 a 843 millones de toneladas en 2018, se conoce también según cifras del Banco Mundial que la India es el mayor productor mundial de leche, con el 22 por ciento de la producción total, seguido por los Estados Unidos de América, China, Pakistán y Brasil. (FAO, 2020), en el caso particular de América Latina el incremento de producción se debe a los grandes volúmenes de exportación que han manejado desde el año 2011 (78.7 millones de toneladas) al 2020 (93.8 millones de toneladas), en el caso particular de Ecuador la producción de leche se concentra en la provincia de Pichincha, Azuay Cotopaxi y Chimborazo con más de 845 000, 561 000, 484 000 y 458 151 litros/año, respectivamente es así como la región de la sierra andina abarca el 64% de la producción nacional, mientras que la región Costa ocupa el 30%, y la región Oriental mantiene un 6%. (Crespo, Carrasco, Aimacaña, & Chávez, 2019).

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, el 73% de la leche que se produce (3,86 millones de litros) se destina a la comercialización y con ello a la producción mayoritaria de quesos, mantequilla y yogurt (INEC, 2016) situación reflejada en la provincia de Chimborazo con la fabricación de yogurt, leche pasteurizada y quesos (Luque A. , 2018)

La producción de quesos utiliza 1,2 millones de litros diarios de leche y esto origina 900 000 litros de suero, pero solo un 10% se utiliza en la industria láctea. (Comercio, 2018), El lactosuero retiene la mayor cantidad de nutrientes, es por eso que posee un alto poder contaminante alcanzando valores de la demanda biológica de oxígeno (DBO) que oscilan entre 30000-50000 mg/l según (Pais, y otros, 2017). No obstante, la mayoría de los países que transforman la leche en productos de consumo diario no realizan una adecuada reutilización del suero y generan residuos sólidos y líquidos convirtiéndose en medios de contaminación para el entorno global. (Montero, 2013),

La eliminación del suero se debe entre otros aspectos, al desconocimiento de algunos productores sobre las bondades nutricionales de este subproducto (Zambrano & Lopez, 2018) y a la dificultad para acceder a las tecnologías apropiadas para su manejo y procesamiento, pues hasta la presente fecha no existen fabricas que utilicen el recurso para la producción de otros alimentos. (Poveda, 2013). El suero contiene alrededor de 55% de los nutrimentos de la leche y cerca de un 20% de sus proteínas, estas se caracterizan por poseer un gran valor nutritivo y sus funciones aportan propiedades de tipo funcional (Comercio, 2018)

Por tal motivo el objetivo de la investigación es determinar el rendimiento máximo de proteína unicelular en función de tres tipos de suero de leche: suero a base de queso mozzarella, queso fresco y requesón, tras un proceso de fermentación que utiliza levaduras del género *Kluyveromyces Marxianus* en conjunto con la nutrición de minerales para potenciar la presencia de proteína, con ello proponer a la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética la inclusión del elemento en el procesamiento de nuevos productos y alimentos como galletas, suplementos alimenticios, balanceados (Chacón, 2004), potenciadores de sabor de alimentos como sopas, cereales, consomés, salsas, saborizantes y como aporte funcional de productos cárnicos (Zumbado, 2005), además de incentivar la creación de nuevos emprendimientos que solidificaran la matriz productiva y económica no solo de la provincia y región sierra sino de todo un país.

Metodología

El estudio fue cuantitativo, experimental y transversal, en función al tipo de investigación, manipulación de variables y línea de tiempo respectivamente. (Hernández, Fernández y Baptista, 2014) (Patten y Newhart, 2017)

Materiales y Métodos

Se utilizó suero de leche (derivado de la elaboración de queso mozzarella, fresco y requesón), fermentadores, pHmetro (análisis de ph), pipeta (análisis de acidez en el suero), aparato ECOMILK (lectura de proteína), brixometro (medición de azúcar en el suero), termómetro (análisis de temperatura), incubadora de espumaflex (para fermentación de levaduras), minerales (sulfato de amonio, sulfato monopotásico y magnesio). levaduras (*Kluyveromyces marxianus*), estandarizadora (para separación y obtención de proteína), bitácora para registro de las cantidades de proteína, tubos de ensayo, asas de siembra, agar YM, papel craft, incubadora de crecimiento de levaduras y clorafenicol.

Las pruebas físico químicas del suero de leche utilizó la normativa NTE INEN 2594:2011 y los métodos de ensayo respectivos para proteína (método NTE INEN 16), cenizas (NTE INEN 14), acidez (NTE INEN 13) y pH (NTE INEN 2594:2011).

Localización del estudio

El procedimiento experimental y de análisis se desarrolló en la Planta de Lácteos “San Salvador”, Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Nacional de Chimborazo y Laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato LA CONAL.

Procedimiento de extracción de la proteína

Para la obtención de proteína unicelular a partir de la fermentación de suero ácido de quesería se utilizaron 40 L de suero proveniente de la elaboración de queso mozzarella, fresco y requesón, ubicados en fermentadores para la medición de pH, acidez, grasa. El pH fue estabilizado con ácido cítrico para obtener un valor de 4.5 aproximadamente, seguido se adicionó minerales al suero de leche como: sulfato de amonio (1 g/L), sulfato monopotásico (1 g/L) y magnesio (0.5 g/L), previo proceso de mezcla se realizó una pasteurización hasta llegar a los 65°C, el enfriamiento llegó a los 43°C y se colocó levaduras del género *Kluyveromyces marxianus* para su fermentación en una incubadora a temperatura de 39 a 43 °C por 72 horas, finalmente para la extracción de la proteína unicelular se utilizó una estandarizadora de 10 a 15 minutos. Es importante destacar que

para el experimento presente las levaduras fueron conseguidas luego de realizar una inoculación que poseía un crecimiento total elevado de hongos microscópicos unicelulares sobre la superficie inclinada del agar YM, donde se agregó antibióticos (cloranfenicol) cada una de 250mg) para inhibición de microorganismo.

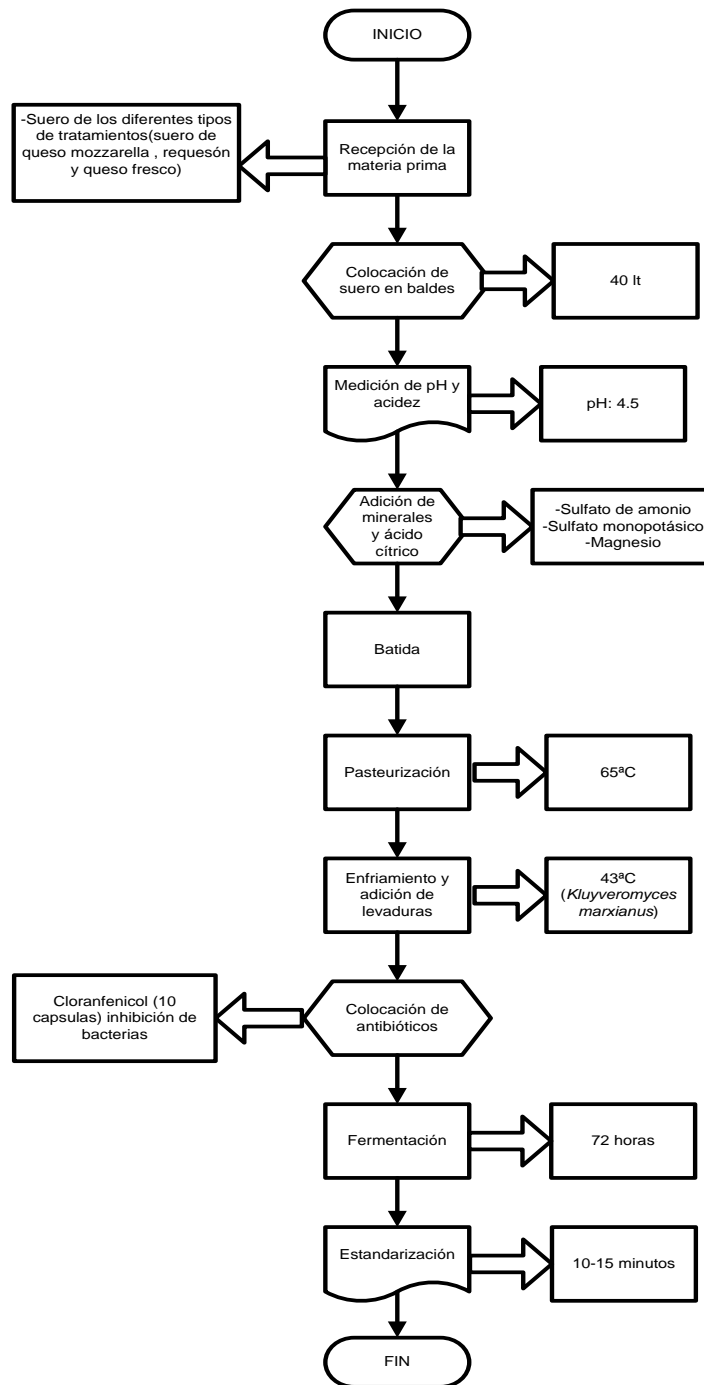


Figura 1: Diagrama de Flujo del proceso de obtención de proteína unicelular

Diseño estadístico

El análisis del rendimiento máximo de proteína unicelular (%) después del proceso de fermentación utilizó técnicas exploratorias para describir el comportamiento de las pruebas fisicoquímicas del suero de leche y de la proteína, seguido por un estudio bivariado que utilizó la prueba T de student para muestras relacionadas en donde se analizó el aumento en el rendimiento de proteína unicelular luego del proceso de fermentación, a través de un diseño en bloques completos (DBCA) se analizó el efecto del factor tratamiento (Tipo de Suero) que contó con tres niveles: QM: Suero a base de queso mozzarella, QF: Suero a base de queso fresco, QR: Suero a base de requesón y factor bloque (Muestra de Suero) que contó con dos niveles: M1: muestra 1 y M2: muestra 2 en el porcentaje del nutriente, además, un gráfico de medias permitió elegir el tratamiento que maximiza la cantidad de proteína unicelular. La medición del rendimiento de proteína unicelular se garantizó tras la lectura de valores arrojados por el equipo ECOMILK.

Resultados y Discusión

Previo a la adición de minerales en el proceso de fermentación se realizaron pruebas fisicoquímicas del lactosuero recién extraído de los quesos mozzarella, fresco y requesón, las características como acidez, pH y proteína cumplieron la norma de calidad NTE INEN 2594:2011 como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Pruebas Fisicoquímicas de los tipos de suero de leche

Características	\bar{x} QM	\bar{x} QR	\bar{x} QF	Norma
Acidez (% ácido láctico)	1,35	0,99	0,81	0,16 - 0,35>
pH	5,9	6,35	5,93	6,8 - 4,8
Temperatura (°C)	20,05	30,65	33,85	-----
Proteína (%)	2,65	2,4	2,45	0,3 - 0,8>
Cenizas (%)	1,2	0,625	0,64	0,7 - 0,7

El suero de queso mozzarella presentó porcentajes superiores en cuanto a la acidez, proteína y cenizas con valores de 1,35; 2,65 y 1,2 respectivamente, este resultado mostró que el tratamiento es rico en nutrientes y minerales, los niveles de pH variaron en los tres tipos de suero y fue a través de la aplicación de ácido cítrico que se logró obtener un pH bajo, óptimo para la fermentación de las levaduras. Por otro lado, los niveles de

temperatura se ajustaron a los rangos establecidos para el proceso de incubación (20°C a 39°C).

La Tabla 2 de las características físicoquímicas luego del proceso de estandarización que consiste en separar el suero (líquido) del medio sólido (proteína unicelular) evidenció que el suero líquido perdió nutrientes debido a la desmineralización del producto.

Tabla 2: Pruebas Físicoquímicas luego de la extracción de la proteína unicelular

Características	\bar{x} QM	\bar{x} QR	\bar{x} QF	Norma
Acidez (% ácido láctico)	1,52	1,14	0,99	0,16 - 0,35>
pH	3,8	4,25	4,8	6,8 - 4,8
Temperatura (°C)	31,35	30,5	32,5	-----
Proteína (%)	6,95	6,41	10,4	0,3 - 0,8>
Cenizas (%)	0,20	0,3	0,44	0,7 - 0,7

Además, se observó que el mayor porcentaje de acidez (1,52) se encontró en el suero de queso mozzarella, la proteína se maximizó en el suero de queso fresco con 1.02% y la menor cantidad de cenizas se encontró en el suero de queso mozzarella (0.205%). Los niveles de pH se encontraron dentro de los rangos correspondientes a un pH ácido que oscila de 4 a 5 y los niveles de temperatura fueron propios del proceso de incubación (20°C a 39°C).

La fermentación del medio sólido que inició con la adición de minerales y levaduras en las dos muestras (p value muestra 1 = 0,028 / p value muestra 2 = 0,017) consiguió aumentar el rendimiento de proteína unicelular en los tres tratamientos.

Tabla 3: Rendimiento de proteína unicelular

Tratamiento	Muestra 1		Muestra 2	
	Sin minerales	Con minerales	Sin minerales	Con minerales
QM	2,7	5,02	2,6	8,88
QR	2,4	10,6	2,4	2,22
QF	2,5	10,4	2,4	10,4

Tabla 4: Intervalo de confianza del rendimiento de proteína unicelular según el tratamiento

Tratamiento	Rendimiento promedio de proteína	Desviación Estándar del Rendimiento promedio de proteína	IC
QM	6,95	2,72	4,23 - 9,67
QR	6,41	5,92	0,49 - 12,33
QF	10,4	0	10,4

La proteína unicelular derivada del suero de queso mozzarella presentó un intervalo de rendimiento de [4,23 – 9,67]%, superior a 7,65% hallado por (García, Sanchez, & Ramón, 2018) quien indicó que los valores fueron influenciados por los niveles incorrectos de temperatura durante la fermentación, por otra parte (Chacón, , 2004), (Taron, Perez, & Martinez, 2012) y (García, Sanchez, & Ramón, 2018) mencionaron que cuando el suero de queso mozzarella es complementado con sales minerales, se garantiza la nutrición de las levaduras, mucho más si se desea emplear como alimento humano. En cuanto al suero de requesón, este presentó un intervalo de rendimiento de [0,49 – 12,33]%, y supera una vez más al 7,12% encontrado por (García, Sanchez, & Ramón, 2018). El suero de queso fresco presentó un valor máximo de 10,4% dejando a la vista que este tratamiento consigue el mayor porcentaje de proteína unicelular ya que no tiene valores de dispersión, (García, Sanchez, & Ramón, 2018) menciona que lo valores se deben a la adición correcta de ácido cítrico para ajuste del pH y coagulación idónea de las proteínas solubles dentro del proceso térmico.

Seguido, se determinó el efecto del tipo de suero y muestra sobre la cantidad de proteína unicelular observada tras la aplicación del método de Kjeldahl al esperar que al menos una de las cantidades promedio de proteína cambie, por su parte la Tabla 3 mostró que no existen diferencias significativas en el rendimiento de proteína extraída en función del tipo de suero y muestra ya que los valores p (0,64; 0,32) fueron superiores a una significancia del 5%

Tabla 5: Análisis de Varianza del Tipo de Suero y Muestra

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	24595,833 ^a	3	8198,611	1,480	,428
Intersección	175788,167	1	175788,167	31,734	,030
Muestra	1633,500	1	1633,500	,295	,642
Tipo_de_suero	22962,333	2	11481,167	2,073	,325
Error	11079,000	2	5539,500		
Total	211463,000	6			
Total corregido	35674,833	5			

Sin embargo, a través de un gráfico de medias se pudo observar que el suero de queso fresco fue el tratamiento que mayor rendimiento promedio de proteína unicelular derivó de la extracción (10,4%).

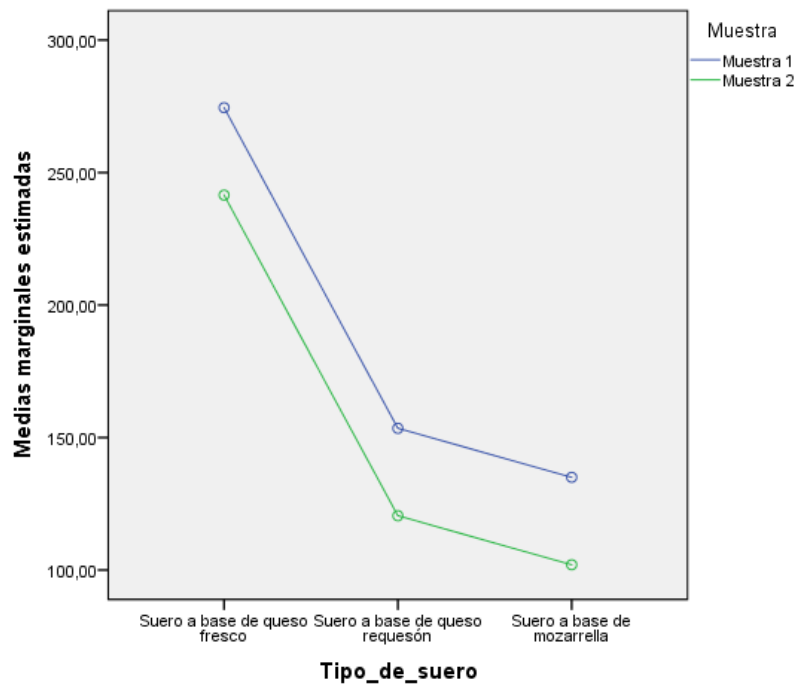


Figura 2: Medias marginales de cantidad de proteína extraída

Conclusiones

- Al fermentar el suero de queso mozzarella, requesón y fresco con levaduras y minerales se maximizó el rendimiento de proteína unicelular, durante el proceso el tipo de suero y las muestras seleccionadas no generaron efectos de incremento del producto, sin embargo fue el suero derivado del queso fresco el que mayor rendimiento de proteína presentó con un 10,4%.
- El porcentaje de proteína encontrado permitirá a la industria alimenticia utilizarlo como elemento esencial para la elaboración de suplementos y balanceados, a la industria cosmética para fusionar con productos que coadyuven en la pérdida de peso y aumento de masa muscular. En el área de la salud su consumo aportará una mejora en el funcionamiento del organismo por la alta cantidad de aminoácidos que contiene, además, de aportar en el crecimiento del ser humano.
- El uso de este suero en la industria ayuda a disminuir la carga contaminante de los efluentes y contribuye al sector lácteo de pequeñas y medianas empresas, en el incremento de ingresos al generar un beneficio de un desecho inutilizado.

Referencias Bibliográficas

Chacón, A. (2004). Perspectivas actuales de la proteína unicelular SCP en la agricultura y la industria. *Redalyc*, 8-12.

- Chacón, A. (2004). Perspectivas actuales de la proteína unicelular SCP en la agricultura y la industria . *Agronomía mesoamericana* , 2-4.
- Comercio, E. (26 de 11 de 2018). Industria usa el 10% del suero de la leche que se produce en el país. págs. 1-2.
- Crespo, C. F., Carrasco, L. V., Aimacaña, N. R., & Chávez, G. A. (septiembre de 2019). Dinámica de los pequeños productores de leche en la Sierra centro de Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2). doi:<https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.0>
- FAO. (28 de Octubre de 2020). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/es/>
- García, V., Sanchez, R., & Ramón, T. (2018). Suero de leche la ciencia detras de su rescate. En V. García, R. Sanchez, & T. Ramón, *Suero de leche la ciencia detras de su rescate* (págs. 15-48). Guayaquil: Grupo Compás.
- INEC. (2016). *Encuesta de Superficie y Produccion Agropecuaria Continua*.
- INEN, N. (04 de 01 de 2013). Obtenido de Leche determinación de proteínas: <https://archive.org/details/ec.nte.0016.1984/mode/2up>
- INEN, NTE. (04 de 01 de 2013). Obtenido de Determinación de sólidos totales y cenizas: <https://archive.org/details/ec.nte.0014.1984>
- Luque, A. (2018). *Repositorio de la Universidad Católica del Ecuador* . Obtenido de <https://repositorio.pucesa.edu.ec/handle/123456789/2605>
- Luque, M. (2010). *Estructura y propiedades de las proteínas*. Obtenido de https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf
- NTE, I. (05 de 01 de 2013). Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.2594.2011/page/n7/mode/2up>
- Pais, J., Nuñez, J., Lara, M., Rivera, L., Trujillo, L., & Cuaran, M. (2017). Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología. *Revista Bionatura*.
- Poveda. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Scielo*, 6.
- Poveda. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Scielo*, 6.
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Scielo*, 4-5.

- Taron, A., Perez, J., & Martinez, J. (2012). Obtención de proteína unicelular a partir de lactosuero . *Redalyc*, 2-4.
- Unam. (20 de 06 de 2010). *Departamento de la facultad de quimica UNAM*. Obtenido de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PROTEINAS\(CLASIFICACION\)_20610.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PROTEINAS(CLASIFICACION)_20610.pdf)
- Zambrano, D., & Lopez, E. (2018). La industria de lácteos de Riobamba – Ecuador: dinámicas en la economía local. *ResearchGate*, 1-2.
- Zumbado, W. (2005). *Repositorio* . Obtenido de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/422/1/25581.pdf>

PARA CITAR EL ARTÍCULO INDEXADO.

Marcatoma Tixi, J. A., Rodas Espinoza, S. L., Mármol Cuadrado, L. H., & Galán Robalino, P. A. (2020). Análisis estadístico en la producción de proteína unicelular a partir de la fermentación del suero ácido de quesería. *ConcienciaDigital*, 3(4.1), 34-45.

<https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v3i4.1.1468>



El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Conciencia Digital**.

El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Conciencia Digital**.

