

PRODUCCIÓN DE EXTRACTOS LÍQUIDOS CON ALTO CONTENIDO DE NUTRIENTES A PARTIR DE LEVADURAS RESIDUALES

Gimenez, Franco

*Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas
Laboratorio de Ingeniería Ambiental
Director/a: Seluy, Lisandro*

Área: Ingeniería

Palabras claves: Cerveza, autólisis, valorización.

INTRODUCCIÓN

Las levaduras residuales son uno de los principales subproductos del proceso de producción de cerveza. Estas consisten en una suspensión del 8-15% m/v de levaduras en cerveza (Fillaudeau et al., 2006) que presenta una considerable demanda química de oxígeno, del orden de los 300000 mgO₂/L. El elevado contenido de compuestos remanentes del lúpulo que permanecen adsorbidos en las mismas genera inconvenientes asociados a su disposición. Si bien las grandes empresas normalmente utilizan los subproductos con fines de comercialización para alimentación animal, hay poco conocimiento sobre la valorización de los mismos en las cervecerías artesanales. Teniendo en cuenta el concepto de autólisis celular en levaduras, el cual consiste en un evento lítico endógeno e irreversible que ocurre en las células, causado por la acción de enzimas intracelulares, proteasas y carbohidrasas, el presente trabajo busca aprovechar este proceso sencillo, que no requiere de agregados de reactivos externos, como enzimas u solventes, y que puede ser inducido por cambios en la temperatura y el pH, para valorizar las levaduras residuales en este tipo de industrias. Como resultado, se pretende producir un extracto rico en fuentes de nitrógeno y oligoelementos biodisponibles, que pueda ser utilizado como suplemento en la producción de cerveza u otros procesos productivos.

OBJETIVOS

- Evaluar el impacto de la matriz en la cual están suspendidas las levaduras residuales (cerveza, solución alcohólica o agua), y el efecto de adicionar un sobrenadante de una autólisis previa, sobre el proceso de obtención de extracto líquido por autólisis de levaduras residuales, maximizando la liberación celular y el contenido de compuestos nitrogenados en el menor tiempo posible.
- Evaluar el impacto del uso de uno de los extractos líquidos obtenidos, como fuente de nitrógeno en la producción de etanol mediada por levaduras.

Título del proyecto: "Producción de extractos líquidos ricos en nutrientes a partir de las levaduras residuales, como estrategia para reemplazar las importaciones y mejorar la calidad de la industria cervecera".

Instrumento: PIBAA

Año convocatoria: 2022

Organismo financiador: CONICET

Director/a: Seluy, Lisandro

METODOLOGÍA

En experiencias previas en el grupo de trabajo, se evaluaron distintas condiciones de autólisis y se establecieron valores óptimos de pH inicial (pH=4) y temperatura (T=40°C), los cuales se utilizaron en las actividades llevadas a cabo en este trabajo.

En busca de maximizar la liberación de compuestos de nitrógeno en el menor tiempo posible, se evaluó el impacto de agregar al inicio del proceso de autólisis, el sobrenadante de una autólisis previa de 24 h. El ensayo se llevó a cabo en 6 reactores de 100 ml estableciendo 3 condiciones por duplicado. Las levaduras residuales se centrifugaron y la biomasa obtenida se resuspendió en soluciones conteniendo 0%, 20% y 50% v/v de sobrenadante de la autólisis previa. Se ajustó el pH inicial de los reactores a un valor de 4 utilizando una solución de ácido sulfúrico 1 M y se utilizó un baño térmico para mantener la temperatura (T) en 40°C. Se tomaron muestras a 0, 4, 8, 24, 48 y 72 h, a las que se le determinó el contenido de sólidos suspendidos totales (SST), pH y el contenido alfa-amino nitrógeno (FAN). Para este último, se centrifugó 1 ml de la muestra a 5000 rpm por 5 minutos para desprenderse de los restos de biomasa y se utilizó el sobrenadante para su determinación por espectrofotometría, según la reacción publicada por Lie (1973).

Por otra parte, como las levaduras residuales se generan como una suspensión de levaduras en cerveza, en una segunda experiencia, se evaluó el impacto de esta matriz sobre la autólisis de las levaduras. Para esto se prepararon 8 reactores de 100 ml estableciendo 4 condiciones por duplicado. Las mismas consistieron en: 1) un control de las levaduras residuales en su matriz de origen (cerveza), 2) las levaduras se centrifugaron y resuspendieron en agua, 3) las levaduras se centrifugaron y se resuspendieron en una solución de etanol al 6% v/v, simulando la concentración presente en la cerveza. Para el tratamiento 4), se centrifugaron las levaduras, se resuspendieron en una solución de Tween 80 al 0,1% v/v, se reguló el pH a 10 con una solución de NaOH 10 N, se homogeneizó a T=50°C por 5 minutos, para luego realizar un lavado y una resuspensión final en agua. Se estableció una T en los reactores de 40°C y un pH inicial de 4. Se tomaron muestras a tiempo 0, 24, 48 y 72 h, determinando los mismos parámetros mencionados en la experiencia anterior (SST, pH y FAN).

Finalmente, para evaluar el impacto del agregado de extracto líquido como fuente de nutrientes, se realizó un ensayo de producción de bioetanol utilizando una cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red. Para esto se prepararon 6 reactores de 100 ml estableciendo 3 condiciones por duplicado, que consistieron en 1) una solución de glucosa de 100 g/L, sin agregado de otro nutriente; 2) una solución de glucosa de 100 g/L, suplementada con extracto de levaduras comercial a una concentración de 20 g/L; y 3) una solución de glucosa de 100 g/L, suplementado con extracto líquido obtenido en las autólisis previas, para obtener una concentración inicial de FAN similar a la de extracto comercial, en esa concentración. Luego se inocularon los reactores y se tomaron muestras a distintos tiempos (0, 1, 3, 5, 7, 9 y 11 h), donde se determinó el consumo de glucosa y la generación de etanol. La determinación de glucosa se efectuó mediante un kit enzimático, y el contenido de etanol por cromatografía gaseosa.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En la Figura 1 se presentan los resultados del ensayo de autólisis con agregado de sobrenadante. Con respecto a los SST, se aprecia una evolución similar para las 3 condiciones presentadas. Partiendo desde una concentración inicial que oscila entre 11% y 12% m/v, se evidencia un descenso mayor para los reactores con sobrenadante en las primeras 4 h, donde la diferencia de concentración es aproximadamente 1% superior

respecto al reactor sin sobrenadante. A partir de las 8 h, la concentración se estabiliza, alcanzando valores finales entre 5% y 5,5% m/v para los 3 casos hacia el final de la experiencia. La determinación del FAN muestra mayores concentraciones para los reactores que presentan sobrenadante respecto a los reactores sin agregado, los cuales alcanzan valores finales de 7000 y 5000 mg/L respectivamente. Siguiendo este análisis, si bien existen diferencias en los valores iniciales de 400 y 1300 mg/L aproximadamente, las cuales pueden atribuirse al aporte de nitrógeno del líquido adicionado, esta diferencia aumenta hacia el final de la experiencia a un valor cercano a los 2000 mg/L, por lo que se evidencia una leve mejora en el rendimiento. Finalmente, la evolución del pH resulta similar para todos los reactores, los cuales alcanzan valores de 5,5 a partir de las 4 h que se mantienen hasta el final del ensayo (datos no mostrados).

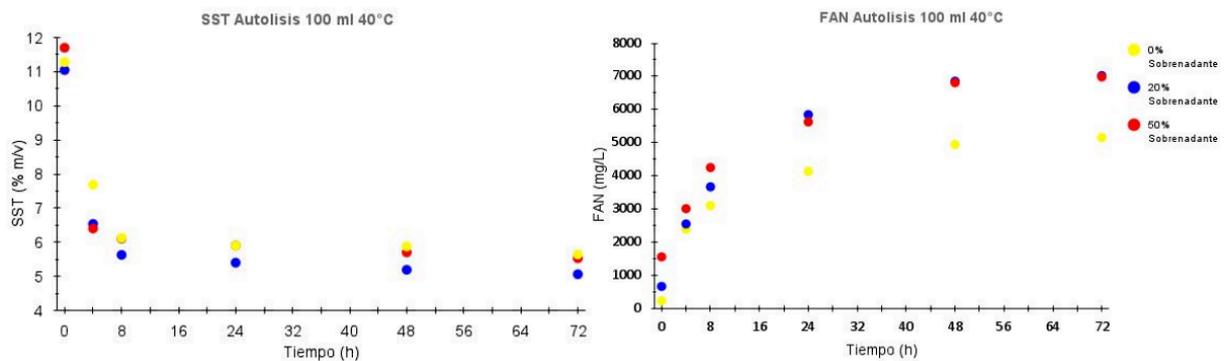


Figura 1. Autolisis con agregado de sobrenadante.

Los resultados de la evaluación del impacto de la matriz de las levaduras en la autolisis se exhiben en la Figura 2. En la evolución de los SST, se presenta una reducción del 8,5% al 7% m/v para el caso donde la matriz original está presente, mientras que para las demás condiciones se obtienen concentraciones finales inferiores, que alcanzan valores próximos al 4% m/v para el tratamiento con NaOH y 5,5% m/v para los reactores restantes. En todos los casos el descenso en la concentración se evidencia en las primeras 24 h de experiencia. Con respecto al FAN, los resultados muestran valores finales levemente superiores para el tratamiento con NaOH, donde se remarca una diferencia entre 600 y 800 mg/L respecto a los demás reactores. Cabe destacar que el tratamiento realizado tiene como objetivo remover los compuestos remanentes del lúpulo que permanecen adsorbidos en las levaduras, por lo que se debería profundizar su estudio para verificar si el mismo además, mejora el rendimiento del proceso de autolisis. Finalmente, el pH evoluciona de manera similar a la experiencia anterior, ya que se estabiliza en valores cercanos a 5,5 para todos los casos a partir de las 24 h (datos no mostrados).

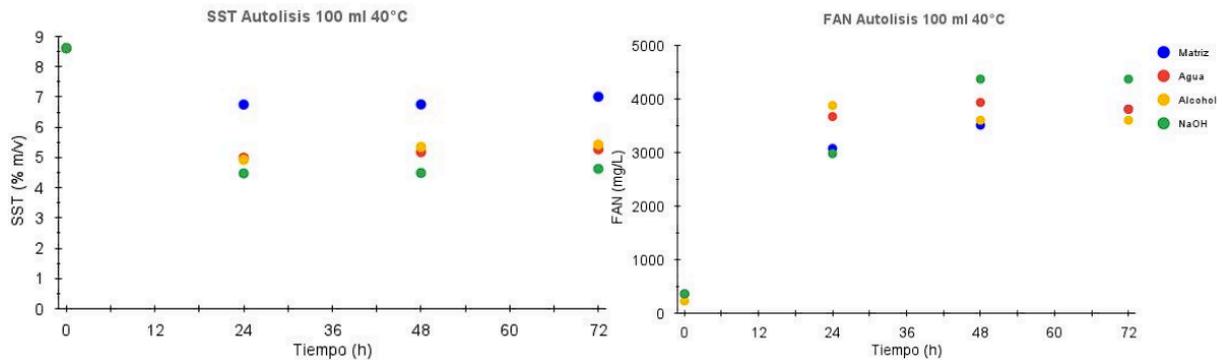


Figura 2. Impacto de la matriz de las levaduras en su autólisis.

Por último, la Figura 3 presenta los resultados del ensayo de producción de bioetanol. Tanto para el crecimiento de biomasa como para el consumo de glucosa se aprecia un comportamiento similar, donde los reactores sin fuente de nitrógeno no tienen la capacidad de consumir la glucosa y por lo tanto no existe proliferación de biomasa de levaduras. Los reactores con extracto de autólisis y comercial, en cambio, exhiben valores semejantes en ambas gráficas, donde se alcanzan concentraciones de biomasa entre 8 y 9 g/L y agotan la glucosa hacia el final de la experiencia. Con respecto a la generación de etanol, los resultados dan lugar a una concentración inicial de 3,5 g/L que aumenta aproximadamente a 38 g/L al final de la experiencia para los reactores que contienen fuente de nitrógeno. De esta manera, se concluye que el extracto de autólisis podría reemplazar a un extracto comercial en procesos de fermentación a altas concentraciones de glucosa.

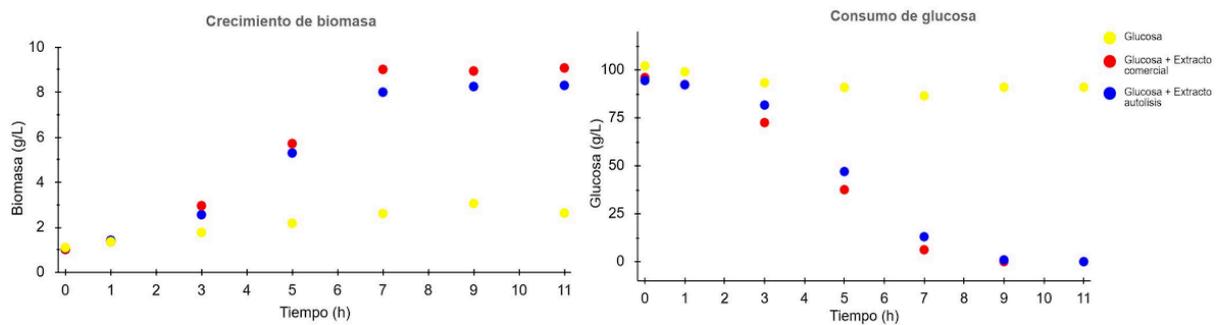


Figura 3. Ensayo de producción de bioetanol.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Fillaudeau, L., Blanpain-Avet P., Daufin G. 2006. Water, wastewater and waste management in brewing industries. *J. Clean Prod*, 14(5), 463-471.

Lie, S. 1973. The EBC-ninhydrin method for determination of free alpha amino nitrogen. *J. Institute of Brewing*, 79:1, 37-41.