



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS UNICELULARES  
PARA ENRIQUECIMIENTO PROTEICO DEL BAGAZO DE CAÑA  
DE LA EMPRESA “IANCEM”.**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**QUÍMICA**

**AUTORA: JENNYFER CRISTINA FLORES TAEZ**

**DIRECTORA: Ing. LINDA MARIUXI FLORES FIALLOS, MSc.**

Riobamba – Ecuador

2022

**©2022, Jennyfer Cristina Flores Taez**

Se autoriza la reproducción parcial o total, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Jennyfer Cristina Flores Taz declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 30 de mayo del 2022.

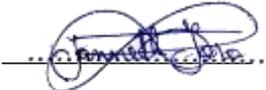
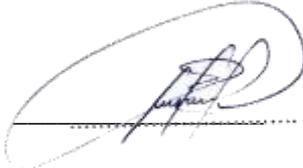
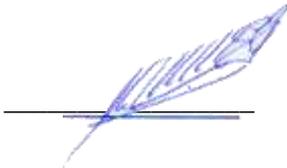
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jennyfer Cristina Flores Táz', enclosed within a hand-drawn oval shape.

**Jennyfer Cristina Flores Táz**

**C.I. 100394392-3**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA QUÍMICA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE CUATRO SUSTRATOS UNICELULARES PARA ENRIQUECIMIENTO PROTEICO DEL BAGAZO DE CAÑA DE LA EMPRESA “IANCEM”**, realizado por la señorita: **JENNYFER CRISTINA FLORES TAEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Lourdes Janneth Jara Samaniego, PhD. <b>PRESIDENTA DEL TRIBUNAL</b>		2022-05-30
Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos, MSc. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-05-30
Ing. Magdy Mileni Echeverría Guadalupe, PhD. <b>ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-05-30

## **DEDICATORIA**

En gesto de mi agradecimiento dedico este trabajo de integración curricular a mis padres, Fabián Flores Rosales y Paca Tález Reina que con su esfuerzo y apoyo incondicional hoy celebran junto a mí un logro más, gracias por su paciencia, entrega y confianza puesta en mí, las palabras de aliento en los días difíciles que nunca faltaron, a mis hermanos Lilibeth y Ricar que con su alegría cambiaban mi día y sobre todo a Dios que guía siempre mi camino.

Cristina

## **AGRADECIMIENTO**

El reto más grande fue la universidad lejos de casa, pero llena de metas por cumplir, agradezco a los buenos profesores que sentaron las bases que hoy me permiten formarme como química, agradezco al INGENIO AZUCARERO DEL NORTE “IANCEM” por abrirme sus puertas para el desarrollo del trabajo de integración curricular en especial al Ing. Rubén Guzmán e Ing. Linda Flores quien con sus conocimientos me ayudaron a concluir con este trabajo.

Cristina

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

1.	DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....	3
1.1.	Planteamiento del problema.....	3
1.2.	Justificación.....	4
1.3.	Objetivos.....	4
1.3.1.	<i>Objetivo general</i> .....	4
1.3.2.	<i>Objetivos específicos</i> .....	5

### CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO METODOLÓGICO.....	6
2.1.	Antecedentes.....	6
2.2.	Bases teóricas.....	7
2.2.1.	Proteína unicelular.....	7
2.2.1.1.	<i>Composición de la proteína unicelular</i> .....	9
2.2.2.	<i>Fuentes de proteína unicelular</i> .....	10
2.2.3.	<i>Diseño experimental en la producción de SCP</i> .....	13
2.2.4.	<i>Factores que influyen en la producción de SCP</i> .....	13
2.2.4.1.	<i>Proceso de Obtención de la proteína unicelular (SCP)</i> .....	14
2.2.5.	<i>Enriquecimiento proteico</i> .....	14
2.2.6.	<i>Método de Kjeldahl</i> .....	15
2.2.7.	<i>Ensilado</i> .....	16
2.2.7.1.	<i>Fases del ensilado</i> .....	17
2.2.8.	<i>Análisis bromatológico</i> .....	18
2.2.9.	<i>Análisis proximal</i> .....	18
2.2.9.1.	<i>Humedad</i> .....	19

2.2.9.2.	<i>Proteína cruda</i> .....	19
2.2.9.3.	<i>Lípidos crudos</i> .....	19
2.2.9.4.	<i>Fibra cruda</i> .....	19
2.2.9.5.	<i>Ceniza</i> .....	19
2.2.9.6.	<i>Libre de nitrógeno (ELN)</i> .....	20
2.2.10.	<b>Método Bradford</b> .....	20
2.2.10.1.	<i>Bases químicas del método Bradford</i> .....	20
2.2.10.2.	<i>Procedimiento</i> .....	21
2.2.14.	<i>Arthrospira platensis</i> .....	22
2.2.15.	<i>Pool de algas</i> .....	23
2.2.16.	<i>Bagazo de caña de azúcar</i> .....	23
2.2.16.1.	<i>Valoración alimenticia del bagazo de caña de azúcar</i> .....	24
2.3.	<b>Bases conceptuales</b> .....	25
2.3.1.	<i>Biotecnología</i> .....	25
2.3.2.	<i>Proteína unicelular</i> .....	25
2.3.3.	<i>Método Bradford</i> .....	25
2.3.4.	<i>Método Kjeldahl</i> .....	25
2.3.5.	<i>Ensilado</i> .....	26

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	27
3.1.	<b>Tipo de investigación</b> .....	27
3.2.	<b>Diseño de la investigación</b> .....	28
3.3.	<b>Identificación de las variables</b> .....	28
3.4.	<b>Planteamiento de hipótesis</b> .....	28
3.5.	<i>Matriz de consistencia</i> .....	28
3.6.	<i>Operacionalización de las variables</i> .....	29
3.7.	<b>Localización del estudio</b> .....	30
3.8.	<b>Población de estudio</b> .....	31
3.9.	<b>Tamaño de muestra</b> .....	31
3.10.	<b>Método de muestreo</b> .....	32
3.11.	<b>Técnicas de recolección de datos</b> .....	32
3.12.	<b>Análisis estadístico inferencial</b> .....	32

## **CAPÍTULO IV**

<b>4.</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.</b>	<b>Obtención del bagazo de caña de azúcar .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1.</b>	<b><i>Análisis proximal del bagazo de caña</i> .....</b>	<b>33</b>

## **CAPÍTULO V**

<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.</b>	<b>Recomendaciones .....</b>	<b>49</b>

## **BIBLIOGRAFÍA**

## **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b>	Composición porcentual promedio en base seca de los principales microorganismos.....	9
<b>Tabla 2-2:</b>	Perfil de aminoácidos esenciales promedio en g/100g de proteína de los principales grupos de microorganismos empleados como SCP .....	10
<b>Tabla 2-3:</b>	Lista de sustratos para varias especies bacterianas .....	10
<b>Tabla 2-4:</b>	Lista de sustratos para varias especies de algas .....	11
<b>Tabla 2-5:</b>	Lista de sustratos para varias especies de hongos .....	12
<b>Tabla 2-6:</b>	Composición química y mineral de los subproductos de la agroindustria de la caña de azúcar .....	24
<b>Tabla 3-1:</b>	Matriz de consistencia.....	29
<b>Tabla 3-2:</b>	Operacionalización de las variables .....	30
<b>Tabla 4-1:</b>	Análisis proximal del bagazo de caña húmedo .....	33
<b>Tabla 4-2:</b>	Análisis proximal del bagazo de caña seco.....	34
<b>Tabla 4-3:</b>	Medio de activación para espirulina y pool de algas .....	36
<b>Tabla 4-4:</b>	Medio de activación para levadura y bacteria.....	36
<b>Tabla 4-5:</b>	Análisis de turbidez en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Levadura) .....	37
<b>Tabla 4-6:</b>	Análisis de turbidez en <i>Corynebacterium glutamato</i> (Bacteria).....	38
<b>Tabla 4-7:</b>	Análisis de turbidez en <i>Espirulina</i> .....	38
<b>Tabla 4-8:</b>	Análisis de turbidez en Pool de algas.....	38
<b>Tabla 4-9:</b>	Análisis bromatológico de los sustratos unicelulares, ensilado a los 45 días .....	41
<b>Tabla 4-10:</b>	Concentración de proteína a los 25, 30 y 40 días.....	41
<b>Tabla 4-11:</b>	Estadísticos descriptivos .....	42
<b>Tabla 4-12:</b>	Pruebas de efectos inter-sujetos .....	43
<b>Tabla 4-13:</b>	Comparaciones múltiples 1 .....	44
<b>Tabla 4-14:</b>	Comparaciones múltiples 2.....	44
<b>Tabla 4-15:</b>	Análisis proximal del bagazo de caña inoculados con sustratos unicelulares.....	45

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	Mapa de ubicación del Ingenio Azucarero del Norte compañía de Economía Mixta “IANCEM” .....	31
<b>Ilustración 4-1:</b>	Análisis de comparación del análisis proximal del bagazo de caña húmedo y bagazo de caña seco .....	34
<b>Ilustración 4-2:</b>	Tamizado del bagazo de caña.....	35
<b>Ilustración 4-3:</b>	Bagazo de caña de azúcar seco. Izquierda: Tamizado. Derecha: Sin tamizar .....	35
<b>Ilustración 4-4:</b>	Agitación constante del cultivo de Sabouraud Dextrose Agar con los sustratos unicelulares .....	37
<b>Ilustración 4-5:</b>	Sustratos unicelulares en condiciones óptimas para el experimento.....	39
<b>Ilustración 4-6:</b>	Inoculado del bagazo de caña con sustratos unicelulares.....	39
<b>Ilustración 4-7:</b>	Eliminación de aire de las bolsas .....	40
<b>Ilustración 4-8:</b>	Ensilado de los experimentos .....	40
<b>Ilustración 4-9:</b>	Medias marginales estimadas de proteína .....	45
<b>Ilustración 4-10:</b>	Análisis proximal del bagazo de caña inoculados con sustratos unicelulares .....	46

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RESIDUOS AGROINDUSTRIAL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR
- ANEXO B:** REDUCCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR
- ANEXO C:** MEDIOS DE ACTIVACIÓN PARA LOS SUSTRATOS UNICELULARES
- ANEXO D:** BAGAZO DE CAÑA PROTEINIZADO
- ANEXO E:** BAGAZO DE CAÑA PROTEINIZADO Y SELLADOS AL VACÍO
- ANEXO F:** ENSILADO DEL BAGAZO DE CAÑA PROTEINIZADO
- ANEXO G:** MUESTRA DE SUSTRATOS UNICELULARES RESULTANTES DEL ANÁLISIS DE KJEDHAL
- ANEXO H:** EXPERIMENTOS PREPARADOS PARA ENVIAR ANÁLISIS EN EL LABORATORIO LASA

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar cuatro sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM” para lo cual se realizó la activación de los sustratos unicelulares *Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium glutamato*, *arthrospira platensis* (espirulina) y pool de algas, los sustratos de bacteria y levadura se sometieron a crecimiento por 72 horas y hasta 12 días para *arthrospira platensis* y pool de algas, este procedimiento se efectuó mediante protocolo desarrollado por IANCEM con agitación constante y realizando mediciones de turbiedad en el proceso. La inoculación del material se efectuó en los cuatro sustratos con 500 g de bagazo de caña, 500 ml de sustrato unicelular, 27 g de melaza, 8 g de urea y 2 g de sal, con tres replicas para cada sustrato, y en condiciones anaerobias. Se evidencio el contenido medio de proteína presente en el bagazo de caña a los 45 días en la espirulina 52.86, pool de algas 51.66, bacteria 9,23%, y levadura 9,06. Para el análisis estadístico descriptivo se utilizó en Microsoft Excel última versión 2022, y el análisis de datos se realizó en IBM SPSS Statistics versión 25, donde se realizó Análisis de Varianza y prueba de Tukey. El sustrato con mayor eficiencia para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña a la espirulina (*arthrospira platensis*), y los sustratos que no poseen diferenciación experimental son la bacteria y levadura. Se recomienda emplear mayor tiempo de inoculación al bagazo de caña con los sustratos unicelulares espirulina y pool de algas para evaluar si aumenta la concentración de proteína.

**Palabras clave:** <INOCULACIÓN>, <PROTEÍNA UNICELULAR>, <ESPIRULINA>, <BAGAZO DE CAÑA>, <SUSTRATO>.



0913-DBRA-UPT-2023

## **ABSTRACT**

The objective of the study was to evaluate four unicellular substrates for protein enrichment of sugarcane bagasse of the company "IANCEM" for which the activation of the unicellular substrates *Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium glutamate*, *arthrospira platensis* (spirulina) and algae pool was performed, the substrates of bacteria and yeast were subjected to growth for 72 hours and up to 12 days for *arthrospira platensis* and algae pool, this procedure was carried out using a protocol developed by the Ingenio Azucarero del Norte "IANCEM", with constant agitation and turbidity measurements in the process. The inoculation of the material was accomplished in the four substrates with 500gr of cane bagasse, 500ml of unicellular substrate, 27 g of molasses, 8 g of urea and 2 g of salt, with three replicas for each substrate, and in anaerobic conditions. The average protein content present in sugarcane bagasse at 45 days was evidenced in spirulina 52.86, algae pool 51.66, bacteria 9.23%, and yeast 9.06. For descriptive statistical analysis, the latest version 2022 was used in Microsoft Excel, and data analysis was performed in IBM SPSS Statistics version 25, where ANOVA Analysis of Variance and Tukey test were performed. The most efficient substrate for protein enrichment of sugarcane bagasse to spirulina (*arthrospira platensis*), and substrates that do not have experimental differentiation are bacteria and yeast. It is recommended to use longer inoculation time to sugarcane bagasse with the unicellular substrates spirulina and algae pool to evaluate if the protein concentration increases.

**Keywords:** <INOCULATION>, <SINGLE-CELLED PROTEIN>, <SPIRULINA>, <SUGARCANE BAGASSE>, <SUBSTRATE>.

Lic. Edison Renato Ruiz López, Mg

C.I. 060395704-4

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico extremo conduce a una menor calidad de vida, pobreza y hambruna; por lo tanto, la humanidad ha estado tratando de superar las crisis a través de avances tecnológicos que pueden ayudar a un mayor acceso a los alimentos. En esta era de una sociedad globalizada, se podrían hacer estimaciones confiables de los recursos disponibles para la subsistencia humana a través de la revolución tecnológica (Reihani y Khosravi, 2019, pág.35).

La producción de proteínas ha sido objeto de diversas investigaciones. Uno de los enfoques más ventajosos entre estos estudios de investigación es el acceso a proteínas unicelulares (SCP) producidas a partir de una fuente de desechos agrícolas por fermentación, las SCP son las células secas de microorganismos como hongos, algas y bacterias que se utilizan como suplemento proteico en alimentos para humanos o animales. Al utilizar productos de desecho y materias primas económicas como fuente de carbono y energía, los microorganismos pueden utilizarse para cultivar biomasa o concentrados de proteínas (Reihani y Khosravi, 2019, pág.35).

En tiempos modernos, el primer gran auge de la proteína unicelular se da en Berlín, Alemania, durante la primera guerra mundial, dada la escasez de alimento provocada por este funesto conflicto bélico. La producción se enfocó en el *S. cerevisiac*, que llegó a remplazar hasta el 60% de la proteína importada antes de la guerra. Terminada la conflagración, el interés en la proteína unicelular decrece. Iniciada la segunda guerra mundial, y por las mismas razones, se reactiva el interés en la biomasa microbiana como fuente de alimentación. Solo en los Estados Unidos se produjeron 15.000 toneladas anuales de SCP, para esta época se ensaya con levaduras *Candida arborea* y *Candida utilis* (O'neal, 2017, pág.11).

La primera conferencia sobre proteína unicelular se efectuó en 1967 en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (M.I.T). Se acuñó aquí el término SCP como estándar internacional para la bioproteína. British Petroleum presentó procesos industriales de peso en esta primera conferencia, lo cual contrasta con la segunda llevada a cabo en el M.I.T en 1973, donde muchos países habían ya iniciado producciones a gran escala. Desde los años 1980, y dada la competencia de otras fuentes de proteína como la soya, la producción de SCP no se ubica entre las más rentables. Actualmente solo Rusia, debido a la remarcada escasez de carne y otras fuentes de proteína, es una productora importante de proteína unicelular (O'neal, 2017, pág.12).

El alimento animal puede presentar una marcada escasez futura dado que se necesitará más ganado para suplir la abrumadora demanda. Además, la adecuada alimentación animal es un ítem

de elevado costo, algo muy determinante en la producción. Solucionar el problema de la alimentación humana implica en primer lugar solucionar mucho el problema de las fuentes de proteína para alimentación animal. Ante esta demanda, se está en constante incremento de fuentes proteínicas de alto valor nutritivo, la cual empieza a ser insuficiente. La biomasa puede ofrecer una gran alternativa para remplazar algunas de las fuentes tradicionales de proteína (soya, harina de pescado, suero descremado de leche) (O'neal, 2017, pág.12).

# CAPÍTULO I

## 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

La lucha contra el hambre es un desafío global, así lo establece la propia Organización de las Naciones Unidas (ONU) en sus Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). En el mundo, tal y como alerta la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), se dan situaciones paradójicas, como que en los últimos años haya aumentado el hambre en paralelo a otras formas de malnutrición como la obesidad (IBERDROLA, 2021, pág.2).

Según el Programa Mundial de Alimentos, alrededor de 135 millones de personas padecen hambre severa, debido principalmente a los conflictos causados por los seres humanos, el cambio climático y las recesiones económicas. La pandemia de COVID-19 podría duplicar ahora esa cifra y sumar unos 130 millones de personas más que estarían en riesgo de padecer hambre severa a finales de 2020 (ONU, 2021, pág.6).

Con más de 250 millones de personas que podrían encontrarse al borde de la hambruna, es necesario actuar rápidamente para proporcionar alimentos y ayuda humanitaria a las regiones que corren más riesgos (ONU, 2021, pág.7).

Los sistemas alimentarios del planeta son capaces de producir alimentos suficientes para hacerlo, y de manera sostenible, pero aprovechar ese potencial -y asegurar que toda la humanidad se beneficie de ello requerirá “profundas transformaciones”. Dado el escaso margen para expandir el uso agrícola de más tierras y recursos hídricos, los aumentos de la producción necesarios para satisfacer la creciente demanda de alimentos tendrán que venir principalmente de mejoras en la productividad y de la eficiencia en el uso de los recursos (FAO 2021, pág.5).

Actualmente existe la necesidad de generar fuentes alimenticias con alto valor proteico de bajo costo y que sea factible mediante procesos de laboratorio para ser escalados a procesos industriales, donde substratos baratos o de desecho industrial se aprovechan como fuente energética para que microorganismos seleccionados sintetizen nuevos compuestos de valor comercial, este trabajo formulo el siguiente problema de estudio:

¿Cuál es la diferencia del enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar de la empresa IANCEN utilizando cuatro sustratos unicelulares”?

## **1.2. Justificación**

Los avances tecnológicos dentro de la genética, biología y otras ramas de especialidad han favorecido a la industria alimentaria, desarrollando nuevas tecnologías en beneficio de la agricultura y ganadería, lo que a su vez genera seguridad alimentaria.

La biotecnología ha jugado un papel crucial en el desarrollo de nuevas tecnologías enfocadas a mejorar la calidad nutricional del alimento, diversos estudios han logrado favorecer la cantidad de nutrientes por porción alimenticia realizando combinaciones de distintos tipos para obtener un alimento con mayor valor energético, proteico, y de bajo costo, con tales características dichos productos favorecerán la eficiencia en la producción animal (O’neal, 2017, pág.11).

El presente estudio pretende mejorar las características del bagazo de caña de azúcar al agregarle proteínas unicelulares obtenidas de los sustratos para mejorar los valores nutricionales. Esta investigación ayudará a fortalecer la productividad animal mediante el uso de alimentos con valores altamente nutricionales y de bajo costo, este estudio brindará un aporte crucial al productor y sobre todo accesibilidad a bajo costo ya que se utilizará un material de desecho.

El producto para la empresa “IANCEM” representa un rubro importante por su impacto en el sector agroindustrial y los beneficios económicos que trae consigo esta, debido a que la empresa por el bagazo sin tratar tiene un ingreso de 20 \$ por tonelada de desperdicio, mientras que con las propiedades que entrega la investigación se tiene un ingreso por tonelada de 40 \$ representando de tal manera una rentabilidad del 33 %.

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. *Objetivo general***

- Evaluar cuatro sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM”

### **1.3.2. *Objetivos específicos***

- Obtener proteína unicelular a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium glutamato*, *arthrospira platensis* y pool de algas.
- Realizar análisis proximal y bromatológico a la proteína unicelular de las cuatro muestras.
- Determinar el sustrato con mayor eficiencia para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO METODOLÓGICO

#### 2.1. Antecedentes

La Biotecnología se define como un área multidisciplinaria, que emplea la biología, química y procesos varios, con gran uso en agricultura, farmacia, ciencia de los alimentos, ciencias forestales y medicina. Probablemente el primero que usó este término fue el ingeniero húngaro Karl Ereky, en 1919 (AGROTEC, 2019, pág.6).

La palabra proteína unicelular (SCP) se considera el más término apropiado ya que se produce a partir de organismos unicelulares. El término SCP se introdujo por primera vez en 1968 cuando los científicos estaban juntos en una reunión para descubrir la mejor alternativa de las terminologías que se usaban en la práctica común. La proteína unicelular es producida por diversas especies microbianas que incluyen algas, bacterias, hongos y levadura. Entre ellos, los hongos y las bacterias son los principales productores de esa proteína ya que se caracterizan por una rápida tasa de crecimiento y mayor contenido de proteína (Sharif et al., 2021, pág.32).

La producción de proteína unicelular surge debido a la escasez de alimentos que se presentó en la década los 50' y 60' (Forero et al., 2021, pág.42). La producción de proteína unicelular ha representado desde principios del siglo XX una opción biotecnológica de discutida viabilidad en el manejo y aprovechamiento de grandes cantidades de desechos orgánicos de origen agrícola, constituyendo una alternativa recurrente para convertir estas fuentes de polución en materiales útiles desde un punto de vista económico, nutricional e industrial (Chacón, 2004, pág.12).

Los primeros microorganismos empleados como fuente de proteína fueron las levaduras, especialmente *Saccharomyces cerevisiae*, que aún hoy día es la principal fuente de SCP con una producción de 200.000 toneladas anuales en peso seco. Son también de uso amplio *Spirulina máxima*, *Aspergillus niger*, *Kluyveromyces fragilis* y *Candida utilis*. La utilización de determinado microorganismo depende del sustrato, el proceso y la misma calidad deseada de la biomasa(Chacón, 2004, pág.12). Se encontró que la levadura es capaz de producir alrededor de 250 toneladas de proteína en 24 h (Sharif et al., 2021, pág.32). La bioseguridad, la disponibilidad técnica y la estabilidad biológica son aspectos a tener en cuenta para la selección de determinada cepa como fuente de proteína unicelular (Chacón, 2004, pág.13).

Es importante en la selección del microorganismo adecuado la estabilidad genética, la capacidad de crecer en un proceso continuo, la especificidad al substrato que se le ofrece, su demanda de nutrientes, la facilidad con que la biomasa obtenida puede separarse del medio de cultivo, y la calidad final deseada en el producto (Chacón, 2004, pág.13).

Además del alto contenido de proteínas, que es del 60 al 82% en materia seca base, SCP también consta de carbohidratos, ácidos nucleicos, grasas, minerales y vitaminas. Otra ventaja asociada con SCP es que es rico en varios aminoácidos esenciales como lisina, metionina que no están presentes en cantidades suficientes en la mayoría de los animales y fuentes vegetales. Se ha informado que SCP es una buena sustitución de costosas fuentes de proteínas como la harina de pescado y la soja comida. La proteína se presenta en cantidades apreciables en células microbianas que se forman a partir de diferentes fuentes de nitrógeno inorgánico como el amoníaco y se presenta también en algas. El uso de diferentes fuentes orgánicas como como productos de desecho de la industria y la agricultura también es muy común para la producción de SCP (Sharif et al., 2021, pág.33).

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Proteína unicelular**

La proteína unicelular es un término aplicado a un amplio rango de algas unicelulares y filamentosas, hongos y bacterias los cuales son producidos por procesos de fermentación controlada para su uso como alimento animal (Tacón, 1989, pág.66).

La proteína celular (SCP) es uno de estos productos dietéticos de alta calidad obtenidos a partir de desechos, es una masa de células secas (biomasa), también se puede denominar como bioproteína, proteína microbiana o biomasa; los microbios se pueden utilizar como suplementos ricos en proteínas o ingredientes en dieta humana y animal. La proteína unicelular puede ser una buena alternativa a las fuentes de proteína vegetal ya que no requieren grandes superficies de tierra o grandes embalses de agua para su producción. A diferencia de las fuentes vegetales, su producción también es independiente de las variaciones estacionales y climáticas y se puede producir durante todo el año. Además, no emiten gases de efecto invernadero para el medio ambiente como en el caso de las fuentes de proteínas vegetales(Sharif et al., 2021, pág.35).

Comparada con las proteínas alimenticias convencionales de plantas y animales, estos microorganismos ofrecen numerosas ventajas como productores de proteínas (Tacón, 1989, pág.66):

- Su producción puede ser basada sobre sustratos de carbón natural los cuales son disponibles en grandes cantidades (hulla, petroquímicos, gas natural) o sobre subproductos celulósicos de la agricultura, los cuales por el otro lado causan daños al medio ambiente (Tacón, 1989, pág.66).
- La mayoría de los microorganismos cultivados poseen altos niveles de proteínas (40–80% de proteína cruda en base seca, dependiendo de la especie) (Tacón, 1989, pág.66).
- Tienen un tiempo de generación muy corto; bajo condiciones óptimas de cultivo las bacterias pueden doblar su masa celular en 0.5–2 horas, las levaduras en 1–3 horas y las algas en 3–6 horas (Tacón, 1989, pág.66).

El alto contenido de ácidos nucleicos en la proteína unicelular juega un papel negativo para el consumo de los seres vivos, dado que la ingesta de ARN aumenta las concentraciones de ácido úrico en el plasma, provocando la acumulación de este y dando a la formación cálculos renales y gota. Como posible solución a esta desventaja, se han desarrollado diversos métodos para disminuir el contenido de ARN en la proteína unicelular. El uso de enzimas degradadoras de ARN endógeno (ribonucleasas). Se ha propuesto también el uso de estaciones con químicos como bases diluidas (NaOH, KOH) para la hidrólisis del ARN (Forero et al., 2021, pág.44).

Además del uso de monocultivos de las proteínas unicelulares para la producción de proteínas, existe también la posibilidad de usar mezclas de cultivos de microorganismos unicelulares, como lodos activados, los cuales son el resultado de la oxidación biológica de corrientes de desecho específicas como los desechos de destilería, desechos humanos y desechos del procesamiento en la industria del papel (Tacón, 1989, pág.67).

Para reducir el costo de producción de proteínas unicelulares, lo más importante es la selección de sustratos baratos y adecuados o subproductos agroindustriales biodegradables como fuente de nutrientes para que los microorganismos crezcan y produzcan toneladas de proteína. Para ello se utilizaron diferentes sustratos y comparado en el pasado. Algunos de los sustratos más utilizados son manzana, orujo, cáscaras de ñame, pulpa de cítricos, cáscaras de patata, residuos de piña, residuos de papaya, residuos, etc. También es muy importante elegir producto de desecho adecuado para la proliferación de microorganismos productores de proteínas unicelulares.

Tanto para la investigación como para la industria propósito, la disponibilidad de microorganismos no es un problema ya que muchas cepas de bacterias, algas, hongos y levaduras pueden ser cultivadas en el laboratorio por diferentes caminos, los microorganismos no dependen

del sustrato con excepción de unos pocos. Sin embargo, la disponibilidad de sustrato es muy limitado en cuanto a la economía del consumidor y en cuestión. (Sharif et al., 2021, pág.37).

### 2.2.1.1. Composición de la proteína unicelular

La proteína unicelular puede generarse a través del crecimiento de muchísimas especies diferentes de hongos, algas, levaduras y bacterias, sin embargo, caracterizar la composición particular de cada uno de estos microorganismos resultaría una tarea muy amplia, no obstante, dadas las similitudes es posible expresar en términos más generales la composición de estos microorganismos según su tipo (Chacón, 2004, pág.20).

Puede denotarse en la Tabla 1-1 que el principal valor de la biomasa microbiana es su aporte de proteína, los contenidos de proteína alcanzan un máximo para las bacterias y un mínimo para hongos filamentosos, quedando las levaduras y algas en una posición intermedia. Esta proteína bacteriana es nutricionalmente similar a la proteína del pescado, mientras que la de levadura mantiene similitudes con la de soya (Chacón, 2004, pág.20).

En cuanto a minerales, la SCP destaca como fuente de fósforo, aunque suelen ser pobre en calcio, así como no es buena fuente tampoco de lípidos dietarios (Chacón, 2004, pág.20).

**Tabla 2-1:** Composición porcentual promedio en base seca de los principales microorganismos

Componentes	Hongo Filamentoso	Algas	Levaduras	Bacterias
Proteína	30-50%	40-63%	45-56%	50-83%
Grasa	2-8%	7-20%	2-6%	1.5-3%
Cenizas	9-14%	8-10%	5-9.5%	3-7%
Ácidos nucleicos	7-10%	3-8%	6-12%	8-16%
Aminoácidos	--	--	54%	65%
Humedad	13.0%	6%	4.5%	2.8%

Fuente: Chacón, 2004, pág.21.

El perfil de aminoácidos esenciales Tabla 2-1 es uno de los factores básicos a la hora de evaluar la calidad de un sustrato proteico como alimento. Por lo general los aminoácidos limitantes son la lisina, metionina y el triptófano. Las deficiencias en determinados aminoácidos esenciales no descalifican en lo más mínimo a la SCP. Alimentos tan comunes como la leche o las leguminosas son también deficitarios, así como varios cereales bajos en lisina. El secreto está en la suplementación y en la incorporación dentro de dietas balanceadas (Chacón, 2004, pág.21).

**Tabla 2-2:** Perfil de aminoácidos esenciales promedio en g/100g de proteína de los principales grupos de microorganismos empleados como SCP

Aminoácidos	Hongos filamentosos	Algas	Levaduras	Bacterias	Recomendaciones de la FAO para aminoácidos esenciales
Lisina	3.9	4.6	7.7	7.6	4.20
Treonina	--	4.6	4.8	5.4	2.80
Methionina	1	1.4	1.7	2.0	2.20
Cisteína	--	0,4	--	--	--
Triptófano	1.25	1.4	1.0	--	--
Isoleucina	3.2	6.0	4.6	5.3	4.20
Leucina	5.5	8.0	7.0	7.3	4.80
Valina	3.9	6.5	5.3	7.1	4.20
Fenilalanina	2.8	5.0	4.1	4.6	2.80
Histidina	--	--	2.7	7.8	--
Arginina	--	--	2.4	6.4	--

Fuente: Chacón, 2004, pág.22.

### 2.2.2. Fuentes de proteína unicelular

El tiempo de generación de bacterias es muy corto ya que sus masas celulares se multiplican rápidamente en 20 a 120 minutos, también tienen la capacidad de crecer en una amplia gama de materias primas y sustratos comestibles como almidones y azúcares. Las bacterias pueden multiplicarse fácilmente en los desechos de materia orgánica y petroquímicos, es decir, etanol, metanol y nitrógeno. también pueden multiplicarse en agua natural suplementada con minerales y nutrientes que son útiles para suplir la deficiencia de nutrientes necesarios para su crecimiento (Sharif et al., 2021, pág.40).

Algunas bacterias como *Methylophilus spp.* tiene un tiempo de generación muy corto de 2 h y también es un componente útil de la alimentación animal. Además, su proteína es químicamente mejor que cualquier levadura u hongo. Lista de sustratos para varias especies de bacterias se ilustra en la Tabla 1-1 (Sharif et al., 2021, pág.40).

**Tabla 2-3:** Lista de sustratos para varias especies bacterianas

Sustratos para que las bacterias produzcan SCP	Sustratos bacterianos
Diversas especies bacterianas	Residuos del procesamiento de frutas
Familia de las <i>Methylococcáceas</i>	Compuestos de C-1
<i>Bacillus cereus</i>	Cuerno de carnero
<i>Rhodopseudomonas gelatinosus</i>	Salvado de trigo
Especies de <i>Methylomonas</i>	Caldo de metano

<i>Brevibacterium spp.</i>	Compuestos C-1 a C-4
Especies de <i>Ralstonia</i>	Gas natural
<i>Bacillus licheniformis</i>	Residuos de patata
Especies de <i>Streptomyces</i>	Metanol
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	Fructosa y Glucosa
<i>Escherichia coli</i>	cuerno de carnero
Especies de <i>Cellulomonas</i>	Residuos agroindustriales
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Glucosa
<i>Metanomonas methanica</i>	Metano
<i>Cupriavidus necator</i>	Medios de crecimiento sintéticos
<i>Methylophilus metanotrophus</i>	Metanol
<i>Bacillus pumilis</i>	Residuos del procesamiento de patatas
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Residuos de caucho
<i>Bacillus subtilis</i>	Cuerno de carnero
Diazótrofos rizosféricos	Aguas residuales de cervecería
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Desechos y estiércol animal

Fuente: Sharif et al., 2021, pág.41.

Numerosas especies bacterianas están presentes que se han incluido en alimentación animal desde hace mucho tiempo y tienen la capacidad de producir SCP en grandes cantidades como *Brevibacterium*, *Methylophilus methylotrophus*, *Bacillus megaterium*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acromobacter delvaevate*, *Aeromonas hydrophilla*, *Cellulomonas spp.* *Bacilo subtili*, *Methylomonas methylotrophus*, *Thermomonospora fusca*, *Lactobacillus spp.*, *Rhodopseudomonas capsulate*, especies de *Flavobacterium* y *Pseudomonas fluorescens* (Sharif et al., 2021, pág.41).

Ciertos tipos de microalgas se cultivan para uso animal y humano y por lo general tienen un contenido proteico saludable que puede ir hasta el 70%, aparte de las proteínas, son excelentes fuentes de grasas, principalmente ácidos grasos omega-3, sales minerales, vitaminas y clorofila. Sin embargo, contienen una cantidad relativamente baja de contenido de ácido nucleico que oscila entre el 3 % y el 8 %; la lista de sustratos para varias especies de algas se muestra en la Tabla 2-1. Una especie de alga llamada espirulina fue cosechada por algunos mexicanos y africanos cerca de Texcoco, luego se secó para ser utilizado en la dieta para humanos. En diferentes partes del mundo, la biomasa de algunas otras especies como como *Chlorella* y *Senedesmus* también se ha utilizado como fuente de alimentación (Sharif et al., 2021, pág.41).

**Tabla 2-4:** Lista de sustratos para varias especies de algas

Sustratos para que las algas produzcan SCP	Sustratos de algas
Especies de espirulina	Dióxido de carbono
<i>Chlorella salina</i>	Efluente residual alcalino

<i>Caulerpa racemosa</i>	Dióxido de carbono
<i>Spirulina maxima</i>	Luz solar y dióxido de carbono
Especies de <i>Chlorella</i> .	Dióxido de carbono
<i>Sargazo</i>	Dióxido de carbono y luz solar
<i>Dunaliella</i>	Dióxido de carbono y luz solar
<i>Laminaria</i>	Dióxido de carbono y luz solar
<i>Diatomeas</i> y <i>Chlorella</i>	Dióxido de carbono y luz solar
<i>Porphyra</i>	Dióxido de carbono y luz solar

Fuente: Sharif et al., 2021, pág.42.

Muchas especies de hongos se utilizan para la producción de proteínas unicelulares (Tabla 3-1), se prefiere la proteína de las diferentes especies de hongos a las diferentes fuentes debido a su composición química y perfil de aminoácidos. Los hongos contienen de 30% a 50% de proteína cuando son cultivadas principalmente para la producción de SCP, además su perfil de aminoácidos también cumplía con los estándares de la FAO. Su proteína es rica en lisina y treonina, pero deficiente en cisteína y metionina ya que son azufre contienen aminoácidos y provienen principalmente de fuentes vegetales. Sin embargo, el hongo *K. fragilis* tiene la capacidad de producir aminoácidos que contienen azufre cuando crece en suero (Sharif et al., 2021, pág.42).

La proteína unicelular obtenida de los hongos podría proporcionar alguna otra nutriente además de proteínas. Estos nutrientes incluyen diferentes vitaminas, principalmente del complejo vitamínico B, como riboflavina, niacina, tiamina, biotina, ácido pantoténico, colina, piridoxina, glutatión, ácido paminobenzoico, estreptogenina y ácido fólico. Sin embargo, se informó una disminución en el nivel de insulina y glucosa en sangre después de alimentarse de microproteínas obtenidas de *Fusarium venenatum*. Los hongos tienen una cantidad relativamente alta de contenido de ácido nucleico, en comparación con las algas oscila entre el 7% y el 10% (Sharif et al., 2021, pág.43).

**Tabla 2-5:** Lista de sustratos para varias especies de hongos

Especies fungicas	Sustratos de algas
<i>Aspergillus flavus</i>	Salvado de arroz
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Salvado de arroz
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pulpa de naranja, melaza, bagazo de cerveza
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Inulina, petróleo crudo, hidrocarburos de desecho de glicerol
<i>Aspergillus niger</i>	Orujo de manzana, residuos de plátano, salvado de arroz, patata, almidón
<i>Trichoderma virideae</i>	Pulpa de cítricos

<i>Aspergillus ochraceus</i>	Salvado de arroz
<i>Trichoderma harzianum</i>	Filtrado de suero de queso
<i>Penicillium citrinum</i>	Salvado de arroz
<i>Aspergillus oryzae</i>	Salvado de arroz
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Pulpa de naranja, melaza, bagazo de cerveza, suero, pulpa de patata
<i>Candida utilis</i>	Cama de aves de corral, residuos de pimiento en polvo
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Salvado de arroz
<i>Monascus ruber</i>	Salvado de arroz
<i>Candida tropicalis</i>	Melaza

Fuente: Sharif et al., 2021, pág.45.

### 2.2.3. *Diseño experimental en la producción de SCP*

Tradicionalmente, la optimización en química analítica se ha llevado a cabo monitoreando la influencia de un factor a la vez en una respuesta experimental; aunque sólo se cambia un parámetro, los otros se mantienen en un nivel constante, esta técnica de optimización es llamada una variable a la vez (Reihani y Khosravi, 2019, pág.37).

Su mayor desventaja es que no incluye efectos interactivos entre las variables estudiadas. En consecuencia, esta técnica no representa completamente los efectos del parámetro en la respuesta, otra desventaja es la optimización de factores es el aumento en el número de experimentos necesarios para realizar la investigación, lo que conduce a un aumento en el tiempo y gastos, así como un incremento en el consumo de reactivos y materiales. Algunos estudios se basan en experimentos planeados por evaluar el efecto de varias variables y su interacción en las respuestas finales. De hecho, el diseño de un experimento requiere identificando factores influyentes importantes y logrando los resultados más válidos resultados de ensayos experimentales mínimos con esfuerzos mínimos, recursos, y tiempo (Reihani y Khosravi, 2019, pág.37).

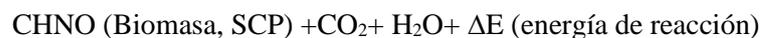
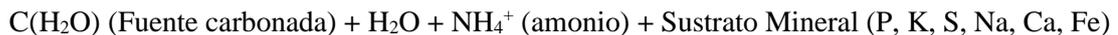
### 2.2.4. *Factores que influyen en la producción de SCP*

El rendimiento (g/L) y la productividad (g/L·h<sup>-1</sup>) de la producción de SCP dependen en gran medida de la composición del medio de cultivo y de las condiciones ambientales. Según la literatura, sustancial se ha hecho un esfuerzo para evaluar los factores que afectan el crecimiento de SCP, tales como pH, temperatura, período de incubación, oxígeno disuelto, tasa de aireación y requerimientos nutricionales tales como carbono y fuentes de nitrógeno para cultivar y usar esta información para optimizar las condiciones de cultivo (Reihani y Khosravi, 2019, pág.37).

#### 2.2.4.1. *Proceso de obtención de la proteína unicelular (SCP)*

El proceso de obtención de proteína unicelular puede involucrar una gran variedad de procesos bioquímicos, en concordancia con la amplia gama de microorganismos que pueden ser utilizados (Chacón, 2004, pág.63).

Reacción general para la producción de biomasa microbiana (SCP) (Chacón, 2004, pág.63):



#### 2.2.5. *Enriquecimiento proteico*

La mayoría de los productos enriquecidos son adecuados en situaciones en las que se requiere una suplementación, sin pasar por alto que lo más recomendable es cubrir las ingestas recomendadas con una dieta equilibrada y saludable. Aunque actualmente no hay estudios que demuestren que estos productos puedan tener un efecto de «sobre nutrición», es necesario no sólo que estén regularizados, sino que se analicen sus efectos a largo plazo (Álvarez y Rodríguez, 2005, pág.7).

Un alimento es considerado enriquecido cuando la proporción de uno o varios de los nutrientes que lo componen es superior a su composición normal y cuando esta modificación se realiza de forma artificial. A lo largo de los años, se han añadido diversos nutrientes a alimentos y bebidas en todo el mundo con el fin de cubrir las recomendaciones dietéticas y solucionar deficiencias en algún nutriente específico (Álvarez y Rodríguez, 2005, pág.8).

En los últimos años, sin embargo, el mercado ha presenciado un aumento de productos funcionales, entre ellos los enriquecidos, que tienen como objetivo mejorar la alimentación de la población en general. No obstante, pueden darse problemas ligados a la eficacia real de la suplementación. Entre otros motivos, se han descrito posibles interacciones o desequilibrios que pueden producirse a nivel metabólico de los diferentes nutrientes ante enriquecimientos masivos (Álvarez y Rodríguez, 2005, pág.9).

Muchos de los problemas asociados con altas dosis de un solo nutriente pueden reflejarse en interacciones que se traducen en una deficiencia relativa para otro nutriente. Esto significa que la suplementación no debería realizarse con un único objetivo comercial, sino que deberían ir

apoyados por estudios que permitan evaluar y garantizar la eficacia de su uso (Álvarez y Rodríguez, 2005, pág.10).

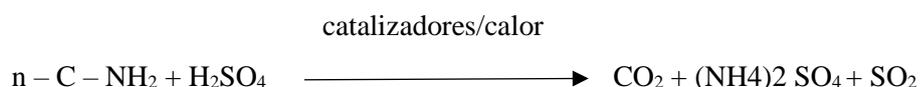
### 2.2.6. Método de Kjeldahl

La determinación de nitrógeno tiene una larga trayectoria en el campo de la química analítica. Johan Kjeldahl presentó el método Kjeldahl por primera vez en 1883 en una reunión de la "Sociedad Química Danesa" (VELP, 2020, pág.8).

El método Kjeldahl consta de 3 etapas:

- Etapa de digestión

Se realiza un tratamiento con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de un catalizador y ebullición que convierte el nitrógeno orgánico en ion amonio, según la ecuación (García y Segovia, 2012, pág.19).



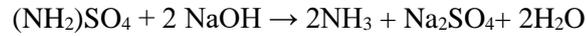
Procedimiento:

Se introducen de 1 a 5 g de muestra en un tubo de mineralización y se ponen 3 g de catalizador que suele estar constituido por una mezcla de sales de cobre, óxido de titanio o/y óxido de selenio. De forma habitual se utiliza como catalizador una mezcla de  $K_2SO_4$ : $CuSO_4$ : Se (10:1:0,1 en peso). Después se adicionan 10 mL de  $H_2SO_4$  concentrado y 5 mL de  $H_2O_2$ . Posteriormente se digiere a 420 °C durante un tiempo que depende de la cantidad y tipo de muestra (García y Segovia, 2012, pág.19).

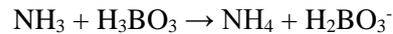
La digestión ha terminado cuando la disolución adquiere un color verde esmeralda característico. En esta etapa, el nitrógeno proteico es transformado en sulfato de amonio por acción del ácido sulfúrico en caliente (García y Segovia, 2012, pág.19).

- Etapa de destilación

Se alcaliniza la muestra digerida y el nitrógeno se desprende en forma de amoníaco (García y Segovia, 2012, pág.19).



El amoníaco destilado se recoge sobre un exceso desconocido de ácido bórico (García y Segovia 2012, pág.20).



Procedimiento:

Después de enfriar se adicionan al tubo de digestión 50 mL de agua destilada, se pone en el soporte del destilador y se adiciona una cantidad suficiente de hidróxido sódico 10 N, en cantidad suficiente (50 mL aprox.) para alcalinizar fuertemente el medio y así desplazar el amoníaco de las sales amónicas. El amoníaco liberado es arrastrado por el vapor de agua inyectado en el contenido del tubo durante la destilación, y se recoge sobre una disolución de ácido bórico (al 4 % p/v) (García y Segovia, 2012, pág.20).

- Etapa de valoración

La cuantificación del nitrógeno amoniacal se realiza por medio de una volumetría ácido-base del ión borato formato, empleando ácido clorhídrico o sulfúrico y como indicador una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno (García y Segovia, 2012, pág.20).



Los equivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoníaco destilados (García y Segovia, 2012, pág.20).

### **2.2.7. Ensilado**

El ensilado es un proceso de conservación de forrajes y subproductos, en donde a través del picado fino y la compactación se crean unas condiciones anaeróbicas (ausencia de aire) y se inicia una

fermentación láctica, en la cual los microorganismos toman los azúcares de los materiales a ensilar y los transforman en ácido láctico. Este ácido láctico hace que disminuya el pH y cuando este sea lo suficientemente bajo, se crea un medio en el cual no pueden habitar algunos microorganismos que pueden descomponer el producto. Por esto y mientras el forraje permanezca en ausencia de aire, el forraje ensilado puede permanecer en buen estado durante meses y años (IDEAGRO, 2021, pág.2).

Una de las ventajas de la alimentación del ganado con ensilajes producidos es que puede disminuir los costos de suplementación al proveer una fuente de fibra efectiva con un valor nutricional superior al del heno y henilaje (pasto conservado en un proceso intermedio entre ensilaje y heno) (O'neal, 2017, pág.22).

#### 2.2.7.1. Fases del ensilado

- **Fase aeróbica:** En esta fase se efectúa durante pocas horas, en el cual el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además, hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco (pH 6,5-6,0) (Elferink et al., 2001, pág.11).
- **Fase de fermentación:** Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0 (Elferink et al., 2001, pág.11).
- **Fase estable:** Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la Fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, los *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos, pero a menor ritmo (Elferink et al., 2001, pág.11).
- **Fase de deterioro aeróbico:** Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire. El período de deterioro puede dividirse en dos etapas (Elferink et al., 2001, pág.12).

La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos (Elferink et al., 2001, pág.12).

La última etapa también incluye la actividad de otros microorganismos aeróbicos, también facultativos como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, la tasa de deterioro depende de la concentración y de la actividad de los organismos que causan este deterioro en el ensilaje (Elferink et al., 2001, pág.12).

Las pérdidas por deterioro que oscilan entre 1,5 y 4,5 % de materia seca diarias pueden ser observadas en áreas afectadas. Estas pérdidas son similares a las que pueden ocurrir en silos herméticamente cerrados y durante períodos de almacenaje de varios meses (Elferink et al., 2001, pág.12).

#### **2.2.8. *Análisis bromatológico***

La bromatología es una parte de la ciencia que estudia en profundidad todo lo relativo a los alimentos en cuanto a su composición, nutrientes y otras sustancias, características fisicoquímicas, cualidades organolépticas (sabor, olor, textura, aspecto, color, etc.), y comportamiento en cuanto a producción, manipulación, elaboración, conservación e incluso en cuanto a aspectos sanitarios (Arranz y Arranz, 2019, pág.3).

Las diferentes herramientas del análisis bromatológico ayudan a entender tanto las características nutricionales como las propiedades técnicas de un alimento y, por tanto, a conocer mejor cómo consumirlo, manipularlo y/o conservarlo (Arranz, y Arranz, 2019, pág.3).

#### **2.2.9. *Análisis proximal***

El análisis proximal comprende la determinación de porcentajes de humedad, grasa, fibra, cenizas, carbohidratos y proteína presentes en los alimentos (Catalán, 2021, pág.2).

Los análisis proximales se aplican tanto a la materia prima utilizada para formular o a los productos terminados como parte de un control para verificar que cumplen con especificaciones o requerimientos establecidos previamente (Catalán, 2021, pág.3).

#### *2.2.9.1. Humedad*

El método se basa en el secado de una muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo (Catalán, 2021, pág.4).

#### *2.2.9.2. Proteína cruda*

La adecuada evaluación de la proteína cruda permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos. Su análisis se efectúa mediante el método no extractivo llamado Kjeldahl, mismo que evalúa el contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio (Catalán, 2021, pág.5).

#### *2.2.9.3. Lípidos crudos*

En este método, las grasas de la muestra son extraídas con éter de petróleo y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente (Catalán, 2021, pág.6).

#### *2.2.9.4. Fibra cruda*

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de peso después de la calcinación indica la cantidad de fibra presente (Catalán, 2021, pág.7).

#### *2.2.9.5. Ceniza*

Este método se emplea para determinar el contenido de ceniza en los alimentos o sus ingredientes mediante la calcinación. Se considera como el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra (Catalán, 2021, pág.8).

#### 2.2.9.6. Libre de nitrógeno (ELN)

Constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados; debido a que se obtiene como la resultante de restar a 100 los porcentajes calculados para cada nutriente, los errores cometidos en su respectiva evaluación repercutirán en el cálculo final (Catalán, 2021, pág.11).

#### 2.2.10. Método Bradford

Es un método espectrométrico (procedimientos de laboratorio basados en la interacción de la radiación electromagnética con un analito). Método de naturaleza colorimétrica, es decir, los resultados se obtienen en base a los colores y su concentración en una solución concreta (Sánchez, 2021, pág.23).

En condiciones acidas el colorante se torna de rojo a azul y, en el proceso, se une a las proteínas que se quieren cuantificar. Si no hay proteínas en el medio acuoso, la mezcla permanece de color marrón, así que es muy fácil detectar la presencia de estas macromoléculas con esta metodología (Sánchez, 2021, pág.23).

##### 2.2.10.1. Bases químicas del método Bradford

Al unirse con la proteína, el azul de Coomassie en su forma catiónica forma una unión no covalente muy fuerte con dicha macromolécula, mediante fuerzas de van der Waals e interacciones electrostáticas. Durante la formación de este complejo químico, el colorante le dona a las porciones ionizables de la proteína su electrón libre lo que causa la disrupción del estado proteico normal (Sánchez, 2021, pág.24).

*Colorante rojo (catiónico/no unido a la proteína)  $\neq$  Colorante azul (aniónico/unido a la proteína)*

Cabe destacar que el colorante rojo presenta un espectro de absorción de 465nm, valor que representa la radiación electromagnética incidente que un material absorbe dentro de un rango de frecuencias. En la forma azul aniónica (interaccionando con proteínas), se produce un cambio en la absorción a 595 nm. Por esta razón se realizan lecturas en espectrofotómetros a un rango de 595 nm. El aumento de absorbancia en este espectro es directamente proporcional al número de uniones entre el colorante y las proteínas, así que no solo se detecta que existe proteínas con el cambio de color, sino también se puede estimar cuanta proteína hay por mililitro de medio líquido (Sánchez, 2021, pág.24).

#### 2.2.10.2. *Procedimiento*

Para este método es necesario un espectrofotómetro. Esta máquina es capaz de proyectar un haz de luz monocromático a través de una muestra, con la finalidad de medir la cantidad de luz que es absorbida por los compuestos, también es capaz de calcular la concentración de dicha molécula (Sánchez, 2021, pág.24).

El reactivo se debe disolver 100 miligramos del colorante en 50 mililitros de una solución de etanol al 95% y añadir 100 mililitros de ácido fosfórico al 85%. Es necesario diluirlo en un litro una vez el colorante se ha disuelto y filtrar la mezcla, para dar lugar al reagente definitivo que se utiliza en el método (Sánchez, 2021, pág.24).

#### 2.2.11. *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras del género *Saccharomyces* son capaces de llevar a cabo el proceso de fermentación, propiedad que se ha comercializado desde hace muchos años en la producción de pan y de bebidas alcohólicas, jugando un papel fundamental en la transformación del jugo de frutas para vino resaltando principalmente la manifestación de los aromas de las variedades utilizadas y aportando aromas de fermentación que pueden enriquecer y resaltar el vino obtenido en concentración (Colcha y Morillo, 2016, pág.13).

Las levaduras vinícolas realizan el proceso es consumir azúcares para producir dos productos importantes: CO<sub>2</sub>, que es dióxido de carbono, y etanol. Además de esto, produce otros productos químicos en pequeñas cantidades, que es lo que le da a las diferentes bebidas sus diferentes sabores tan peculiares dependiendo de la levadura usada (Colcha y Morillo 2016, pág.13).

#### 2.2.12. *Corynebacterium glutamato*

*Corynebacterium glutamato* es una bacteria capaz de transformar la glucosa en ácido glutámico (glutamato). Para ello, se genera un cultivo de estas bacterias, se les proporciona un medio rico en glucosa y las condiciones de crecimiento idóneas, en ese ambiente, la bacteria, como parte de su metabolismo, secretará al medio el ácido glutámico, tras ello, se debe aislarlo y convertirlo en glutamato de sodio (Iranzo, 2015, pág.4).

El glutamato es uno de los aminoácidos más abundantes en nuestro organismo, y aunque es un aminoácido esencial, puede comercializarse en forma de suplemento alimenticio. En este sentido, el ácido glutámico es considerado también un producto biotecnológico (Iranzo, 2015, pág.4).

#### **2.2.13. *Corynebacterium glutamicum***

Es una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa y presente en el suelo, es ampliamente usada en la industria para la producción de aminoácidos; el empleo de esta bacteria para la producción industrial data de hace más de 40 años, la cantidad de aminoácidos producidos por estas bacterias, exceden actualmente las 100 toneladas al año (Lira, 2020, pág.4).

*Corynebacterium glutamicum* utiliza gran diversidad de sustratos, incluidos azúcares, ácidos orgánicos y alcoholes, para su crecimiento y la producción de aminoácidos. Esta bacteria descompone los carbohidratos a través del proceso de fermentación. La producción de aminoácidos está influenciada por la fuente de carbono dada y por ciertas condiciones de suplementos como la limitación de biotina (Lira, 2020, pág.4).

Para el cultivo, se recomiendan temperaturas de 30 °C y un pH de 7,4 – 7,5. Las fuentes de carbono, así como las sustancias que se van a emplear para enriquecer el cultivo, van a depender de los resultados que se quieren obtener (Lira, 2020, pág.4).

#### **2.2.14. *Arthrospira platensis***

*Arthrospira platensis* coloquialmente conocida como *espirulina*, es un microorganismo filamentosos que posee un gran interés en el campo de la biotecnología, debido a que se cultiva en muchos lugares del mundo por su alto valor nutricional (Gómez, 2016, pág.26).

Este valor nutritivo se debe principalmente a su alto contenido en proteína (aproximadamente un 60-70% de su peso seco). La *espirulina* contiene también varios pigmentos que actúan como antioxidantes, también presenta un contenido relativamente alto de vitaminas y minerales (Gómez, 2016, pág.26).

La *espirulina* pueda ser utilizada en diversas aplicaciones, como por ejemplo para la producción de complementos alimenticios animales, o para la obtención de productos de alto valor añadido dirigidos a los sectores nutracéutico, cosmético y farmacéutico (Gómez, 2016, pág.26).

### **2.2.15. Pool de algas**

Durante la II Guerra mundial comenzó una producción masiva de microalgas que están directamente relacionadas con los pool de microalgas que fueron usados como suplementos alimenticios, inclusive sustituyendo el consumo de proteína animal y vegetal para consumo del ganado o del hombre (Villa, 2010, pág.18).

La utilización del pool de microalgas podría ayudar a evitar, al menos en parte, la deficiencia proteica global. La base para este optimismo es que las microalgas tienen un contenido en proteína bruta de aproximadamente el 50% y una productividad del orden de 25 Tm/Ha/año. Desde este momento distintas microalgas de agua dulce, como *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Coelastrum* y *Arthrospira (spirulina)*, entre otras, han sido propuestas como fuente de proteína (Abalde et al., 1995, pág.2).

### **2.2.16. Bagazo de caña de azúcar**

El bagazo de caña de azúcar es un material lignocelulósico constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Se obtiene como subproducto o residuo en los centrales azucareros después de la extracción del jugo de caña de azúcar y representa aproximadamente entre el 25 y 40 % del total de materia procesada, dependiendo del contenido de fibra de la caña y la eficiencia en la extracción del jugo (Pernalet et al., 2008, pág.3).

La producción de alimentos nutritivos y compuestos inocuos de diferentes residuos biodegradables es uno de los principios básicos en la gestión de residuos. En la antigüedad, los desechos eran tratados con varios productos químicos para su descomposición, pero este método no fue satisfactorio para una mejor disposición. Ahora es posible convertir varios desechos en valiosos alimentos o productos para piensos para humanos y animales, que no es solo una forma respetuosa con el medio ambiente sino también una actividad empresarial saludable (Sharif et al., 2021, pág.46).

Muchos tipos de los desechos aún agregan contaminación al medio ambiente o se procesan en productos de baja calidad como biogás, biocombustibles y bioenergía. Diferentes métodos y técnicas están surgiendo, brindando la oportunidad de desarrollar productos de alta calidad como aceite celular, proteína unicelular, productos químicos, enzimas, entre otros (Sharif et al., 2021, pág.46).

En los centrales azucareros el bagazo de caña es un desecho que se quema para la producción de cierta cantidad de energía y como una forma de limitar la disposición final de este desecho (Pernalet et al., 2008, pág.3).

El bagazo de caña de azúcar como todos los materiales lignocelulósicos es rico en fibra; sin embargo, debido a su compleja estructura son de difícil digestibilidad en caso de su utilización como alimento para animales rumiantes, por lo que es necesario someterlos a tratamientos que conduzcan a la disminución o eliminación de las barreras físicas y químicas, tales como la cristalinidad de la celulosa, los grupos acetilos de la hemicelulosa y los enlaces entre la hemicelulosa y la lignina. Los tratamientos aumentarían la accesibilidad de las enzimas durante la hidrólisis permitiendo la conversión de la celulosa y hemicelulosa en azúcares fermentables (Pernalet et al., 2008, pág.4).

#### 2.2.16.1. Valoración alimenticia del bagazo de caña de azúcar

Cuando el bagazo es combinado con otros alimentos, representa una importante opción nutricional para una mayor eficiencia en la producción animal además el costo es relativamente bajo. Para mejorar su valor nutritivo, se han sugerido poligástricos, ya sea por fermentación o combinándola con cereales y concentrados proteicos (Bravo y Vélez, 2019, pág.16).

El bagazo está compuesto por celulosa (41% y 44 %), hemicelulosa (25% y 27 %), lignina (20%) y otros componentes (10%). Los otros componentes incluyen componentes solubles en solventes orgánicos que representan 3% y compuestos solubles en agua que incluyen sacarosa y otros azúcares y polisacáridos que representan 7% (Bravo y Vélez, 2019, pág.16).

**Tabla 2-6:** Composición química y mineral de los subproductos de la agroindustria de la caña de azúcar

Componente	Cogollo	Bagazo	Cachaza	Melote
MO (%)	93,6	97,7	96,6	89,4
HEMICEL (%)	23,7	31,1	-	-
CEL (%)	40,3	34,1	-	-
LIG (%)	4,2	6,6	-	-
N (%)	0,7	0,5	1,8	1,1
P (%)	0,2	0,1	0,2	0,1
K (%)	2,1	1,9	1,8	0,5
Ca (%)	0,3	0,1	0,2	0,1
Mg (%)	0,2	0,1	0,1	0,1
S (%)	0,2	0,1	0,1	0,1

Fe (mg/kg)	78,2	1241,3	1330,0	1078,9
Cu (mg/kg)	<3	4,1	28,6	32,4
Mn (mg/kg)	34,1	36,1	45,2	45,1
Zn (mg/kg)	26,0	11,0	93,5	59,0
B (mg/kg)	1,6	1,9	2,1	4,5
C (mg/kg)	45,6	47,8	56,7	58,3
<b>MO:</b> materia orgánica; <b>HEMICEL:</b> hemicelulosa; <b>CEL:</b> celulosa; <b>LIG:</b> lignina; <b>N:</b> nitrógeno; <b>P:</b> fosforo; <b>K:</b> potasio; <b>Ca:</b> calcio; <b>Mg:</b> magnesio; <b>S:</b> azufre; <b>Fe:</b> hierro; <b>Cu:</b> cobre; <b>Zn:</b> zinc; <b>B:</b> boro; <b>C:</b> carbono				

Fuente: Lagos y Castro, 2019, pág.7.

## 2.3. Bases conceptuales

### 2.3.1. Biotecnología

La biotecnología se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (AGROTEC, 2019, pág.22).

### 2.3.2. Proteína unicelular

La proteína unicelular deriva de la contracción de “proteína de organismos unicelulares”, que sería el término más adecuado. La literatura científica se refiere a la proteína unicelular empleando el término SCP, el cual deriva del término anglosajón “single cell protein” (Chacón, 2004, pág.34).

### 2.3.3. Método Bradford

Este método se utiliza con la finalidad de detectar proteína mediante indicadores colorimétricos, ya que en condiciones acidas el colorante se torna de rojo a azul y en el transcurso del proceso se une a las proteínas que se desea cuantificar, mientras que cuando no sucede este fenómeno se mantiene color marrón.

### 2.3.4. Método Kjeldahl

El método Kjeldahl utiliza para la determinación del contenido de nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas, la determinación se realiza en alimentos y bebidas, carne, piensos, cereales, forrajes, aguas residuales, suelos y otras muestras para el cálculo del contenido en proteína (ITW Reagents, 2021, pág.2).

### **2.3.5. *Ensilado***

El ensilado es un proceso de fermentación ácida que puede utilizar como materia prima pastos, maíz y sorgo e incluso subproductos de la industria como la caña de azúcar, yuca, piña, banano, plátano y naranja. Para elaborarlo, se requiere de una fuente de azúcar y microorganismos que generen la fermentación (O'neal, 2017, pág.46).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Tipo de investigación

Por el método de investigación es un estudio con enfoque cuantitativo debido a que utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento y probar teorías (Fernández y Baptista, 2014, pág.4); para lo cual se recopiló datos para responder la pregunta de investigación ¿Cómo a través de sustratos unicelulares se puede tener enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM”?

Según la manipulación de variables es un diseño experimental debido a que se expone a la variable independiente a manipulación de manera intencional en este caso los cuatro sustratos unicelulares, para analizar las consecuencias de tal manipulación sobre la variable dependiente (Fernández y Baptista, 2014, pág.4).

Considerando el nivel de profundización en el objeto de estudio es una investigación explicativa ya que pretende establecer las causas de los sucesos o fenómenos que se estudian (Fernández y Baptista, 2014, pág.4). En este estudio se pretende explicar ¿Que sustrato presenta mayor eficiencia en el enriquecimiento proteico del bagazo de caña?

Desde el punto de vista del objetivo de estudio es aplicada, porque su enfoque es resolver un problema concreto, en este caso determinar ¿Cuál es la cantidad de proteína total de cada uno de los sustratos en el bagazo de caña?

Según el tipo de inferencia es un estudio hipotético – deductivo debido a que plantea un problema de investigación, define su objetivo y su pregunta (Fernández y Baptista, 2014, pág.4). En este estudio el objetivo es evaluar cuatro sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM” y la pregunta es ¿Cómo a través de sustratos unicelulares se puede tener enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM”?

Del mismo modo según el periodo temporal es transversal, debido a que se recopilan datos en un momento único (Fernández y Baptista, 2014, pág.5); en el caso del estudio únicamente se realizará una muestra de laboratorio por cada sustrato.

Según los medios para obtener los datos es una investigación de laboratorio en que el efecto de todas o casi todas las variables independientes influyentes no concernientes al problema de investigación se mantienen reducido lo más posible es decir las variables independientes en este caso los sustratos unicelulares se realizan en condiciones controladas (Fernández y Baptista, 2014, pág.5).

### **3.2. Diseño de la investigación**

El diseño se desarrolla para obtener la información que se requiere en una investigación y responder al planteamiento (Fernández y Baptista, 2014, pág.7). En este estudio el diseño que se ajustó a la investigación fue el experimental debido a que el investigador pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula, en esta investigación el efecto es el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar y la causa los sustratos unicelulares.

### **3.3. Identificación de las variables**

**Variable independiente:** Sustratos unicelulares.

**Variable dependiente:** Enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar.

### **3.4. Planteamiento de hipótesis**

**Hipótesis alternativa:** El enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar se logra utilizando sustratos unicelulares.

**Hipótesis nula:** El enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar no se logra utilizando sustratos unicelulares.

### **3.5. Matriz de consistencia**

La operacionalización de las variables (Tabla1-2) de este estudio permitió identificar el problema, los objetivos, las hipótesis y las variables para obtener conocimiento del objeto de estudio.

**Tabla 3-1:** Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES
<p><b>Problema general:</b> Solventar la limitada disponibilidad de ingesta de proteína unicelular a base de desechos agroindustriales.</p>	<p><b>Objetivo general:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar el efecto de cuatro sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de la empresa “IANCEM”</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Obtener proteína unicelular a partir de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>Corynebacterium glutamato</i>, <i>Espirulina</i> y pool de algas.</li> <li>• Realizar análisis proximal y bromatológico a la proteína unicelular de las cuatro muestras.</li> <li>• Determinar el sustrato con mayor eficiencia para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña.</li> </ul>	<p><b>Hipótesis alternativa:</b> El enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar se logra utilizando sustratos unicelulares.</p> <p><b>Hipótesis nula:</b> El enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar no se logra utilizando sustratos unicelulares.</p>	<p><b>Variable independiente:</b> Sustratos unicelulares.</p> <p><b>Variable dependiente:</b> Enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar.</p>

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

### 3.6. Operacionalización de las variables

La operacionalización de las variables (Tabla 2-2) de este estudio permitió identificar las variables, los conceptos, indicadores y el instrumento para obtener conocimiento del objeto de estudio.

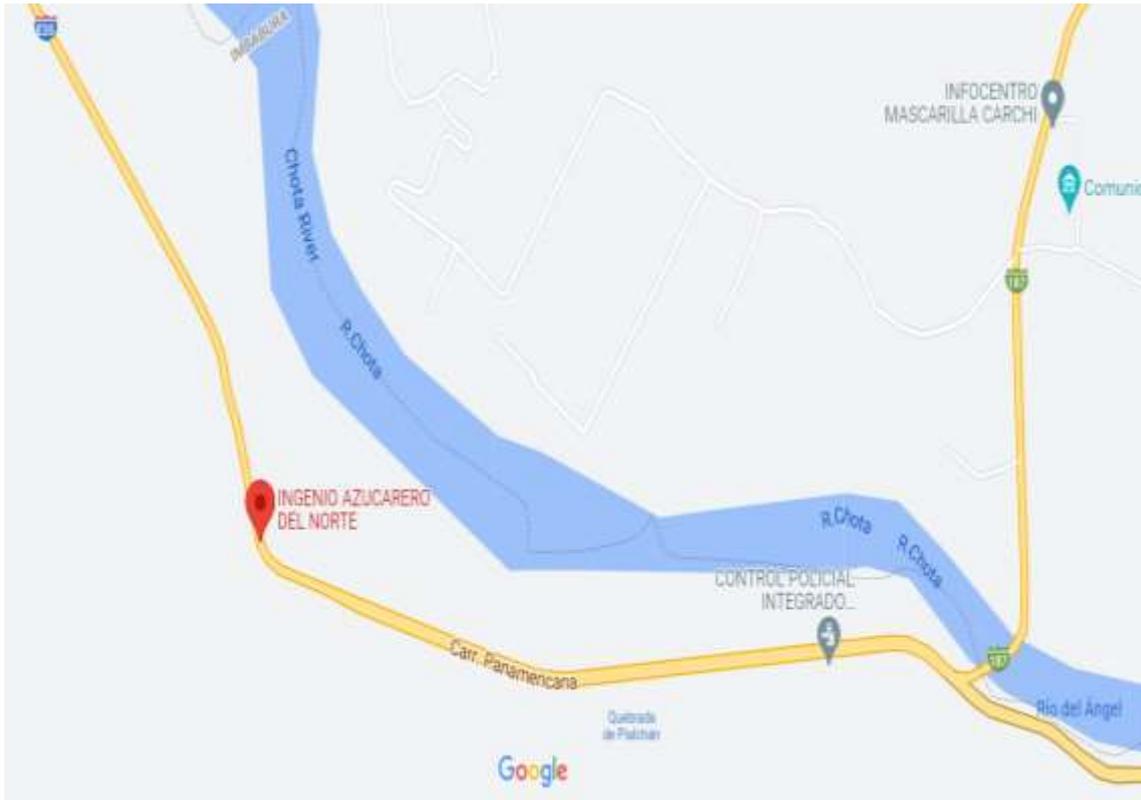
**Tabla 3-2:** Operacionalización de las variables

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	INSTRUMENTO
<p><b>Variable independiente:</b> Sustratos unicelulares</p>	<p>La proteína unicelular es un término aplicado a un amplio rango de algas unicelulares y filamentosas, hongos y bacterias los cuales son producidos por procesos de fermentación controlada para su uso como alimento animal. Comparada con las proteínas alimenticias convencionales de plantas y animales, estos microorganismos ofrecen numerosas ventajas como productores de proteínas (Tacon 1989).</p>	<p>Contenido de proteína.</p>	<p>Análisis fisicoquímico.</p>
<p><b>Variable dependiente:</b> Enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar.</p>	<p>La biomasa es aquella materia orgánica de origen vegetal o animal, incluyendo los residuos y desechos orgánicos, susceptible de ser aprovechada energéticamente.</p>	<p>Método Kjeldahl.</p>	<p>Estadísticos.</p>

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

### 3.7. Localización del estudio

La presente investigación se realizó en el Ingenio Azucarero del Norte compañía de Economía Mixta “IANCEM” en la ciudad de Ibarra en la panamericana norte km 25 vía a Tulcán.



**Ilustración 1-2:** Mapa de ubicación del Ingenio Azucarero del Norte compañía de Economía Mixta “IANCEM”

Fuente: GOOGLE, 2021.

### 3.8. Población de estudio

Cuatro sustratos proteicos unicelulares:

- *Saccharomyces cerevisiae*,
- *Corynebacterium glutamato*,
- *Arthospira platensis* (espirulina),
- Pool de algas.

### 3.9. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra de este estudio se definió acorde a los cuatro sustratos proteicos unicelulares a evaluar, con tres repeticiones de cada uno; lo que genera un tamaño de muestra de 12 experimentos para los sustratos unicelulares.

### **3.10. Método de muestreo**

En el presente estudio se realizará un método de muestreo al azar probabilístico por que la bibliografía define que en este que todos los elementos tienen la misma posibilidad de ser elegidos (Fernández y Baptista, 2014, pág.7); se eligió este método debido a la similitud de condiciones de las muestras.

### **3.11. Técnicas de recolección de datos**

Para realizar el presente trabajo de investigación se ha determinado efectuar una revisión bibliográfica a través de fuentes confiables para brindar un contexto general y relevante al marco teórico y conceptual de la investigación, lo cual servirá de aporte al presente estudio en su fase de laboratorio.

En cuanto al desarrollo de la fase experimental la recolección de datos estará sujeta al desarrollo de los métodos planteados y el análisis y discusión de los resultados mediante utilitarios informáticos que faciliten la comprensión de estos.

### **3.12. Análisis estadístico inferencial**

El análisis estadístico inferencial de este estudio empleo para la tabulación de datos programas informáticos como Excel y IBM® SPSS Statistics, herramientas permitieron realizar un análisis de varianza ANOVA, con las funciones de Estadística Descriptiva y Análisis de Varianza de dos Factores con Varias Muestras por Grupo relacionadas directamente al diseño bifactorial de esta investigación.

## CAPÍTULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Obtención del bagazo de caña de azúcar

La producción de azúcar inicia con la recolección de la caña de azúcar, la cual se da cuando el ciclo de cultivo de aproximadamente 12 meses, el material recolectado es sometido a procesos y procedimientos estandarizados por la industria, con el fin de obtener un producto alimenticio que cumpla con las normas de calidad que exige el mercado, como parte final del proceso de producción se obtienen los residuos agroindustriales entre ellos el bagazo de caña.

El bagazo de caña empleado en este estudio fue obtenido después de la producción de azúcar del “IANCEM”; el bagazo de caña se obtiene húmedo, pero fue sometido a un proceso de secado para realizar el método de tamizado que consiste en separar las partículas del bagazo según un tamaño específico en este caso el tamaño fue:

##### 4.1.1. *Análisis proximal del bagazo de caña*

El bagazo de caña obtenido de la producción de azúcar se obtiene húmedo, debido al mismo proceso industrial, se procedió a tomar dos muestras del material, la primera se sometió a un análisis proximal sin ningún tratamiento (Tabla 1-3), y la segunda recibió un tratamiento de secado (Tabla 2-3).

Los análisis proximales del bagazo de caña húmedo se realizaron en el Laboratorio de análisis de Alimentos y productos procesados “LASA”.

**Tabla 4-1:** Análisis proximal del bagazo de caña húmedo

Característica	Contenido (%)
Carbohidratos	87,1
Cenizas	6,2
Fibra	44,5
Grasa	0,3
Humedad	5,9
Proteína	0,5

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

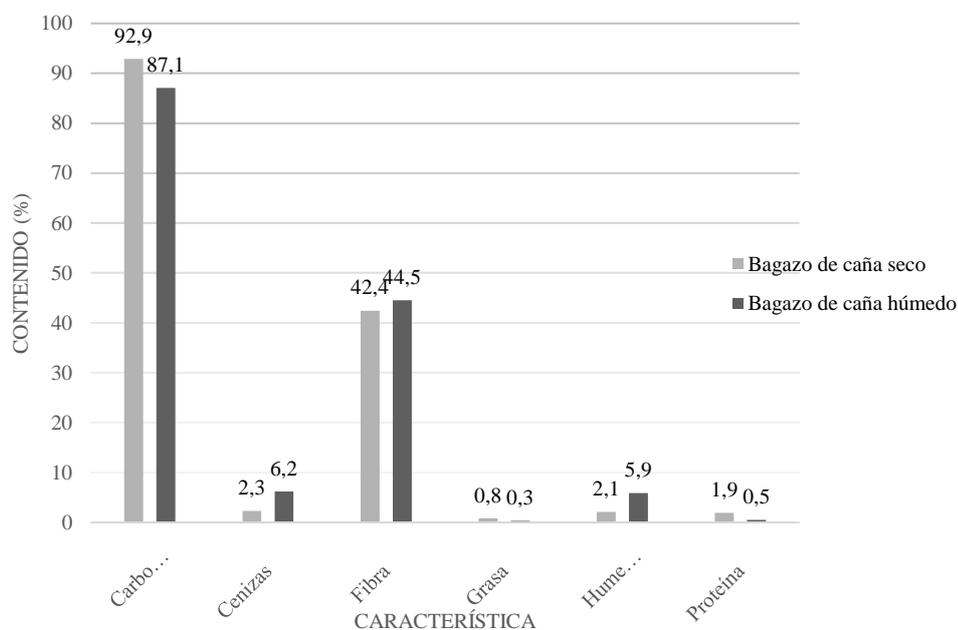
El análisis del bagazo de caña húmedo nos indica que es un residuo que posee en mayor porcentaje carbohidratos en su composición, y una cantidad relevante de fibra, sin embargo, trabajar con el material en estado húmedo, resulta complejo tanto para la manipulación en el proceso de tamizado como para mantener las condiciones óptimas del material, porque debido a la humedad presente se produce la proliferación de microorganismo indeseados en el experimento.

**Tabla 4-2:** Análisis proximal del bagazo de caña seco

Característica	Contenido (%)
Carbohidratos	92.9
Cenizas	2.3
Fibra	42.4
Grasa	0.8
Humedad	2.1
Proteína	1.9

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

Es por lo que se procedió a someter al material a un proceso de secado, lo que nos dio como resultado un residuo con mayor cantidad de carbohidratos que el residuo sin tratamiento como se indica en el Grafico 1-3, además se presenta una disminución de la cantidad de fibra y un aumento en el contenido de proteína del material.



**Ilustración 4-1:** Análisis de comparación del análisis proximal del bagazo de caña húmedo y bagazo de caña seco

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis de comparación del análisis proximal Figura 1-3 nos indica que el bagazo de caña seco posee mayor contenido de carbohidratos 92,9%, grasa 0,8% y proteína 1,9%; el bagazo de caña húmedo presenta mayor contenido en ceniza 6,2%, fibra 44,5% y humedad 5,9%.

El bagazo de caña de azúcar seco se sometido a un proceso de tamizado para obtener un tamaño de partícula uniforme (Ilustración 2-3 e Ilustración 3-3).



**Ilustración 4-2:** Tamizado del bagazo de caña.

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.



**Ilustración 4-3:** Bagazo de caña de azúcar seco. Izquierda: Tamizado. Derecha: Sin tamizar

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

Continuando con el proceso experimental se procedió a tomar del banco de cepa los sustratos unicelulares del “IANCEM”

Los sustratos unicelulares fueron activados como se describe en la Tabla 3-3 y 4-3:

**Tabla 4-3:** Medio de activación para espirulina y pool de algas

Metabolito secundario	g/L
NaHCO <sub>3</sub>	8,4
NaCl	5
KNO <sub>3</sub>	0,8
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,35
EDTA	0,16
MgSO <sub>4</sub>	0,02
MnSO <sub>4</sub>	0,02
FeSO <sub>4</sub>	0,02

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

La activación de la espirulina y el pool de algas se realizó con NaHCO<sub>3</sub>: Carbonato ácido de sodio, NaCl: Cloruro de sodio, KNO<sub>3</sub>: nitrato de potasio, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: Hidrógeno fosfato de amonio, EDTA: ácido etilendiaminotetraacético, MgSO<sub>4</sub>: Sulfato de magnesio, MnSO<sub>4</sub>: Sulfato de manganeso, y FeSO<sub>4</sub>: Sulfato de hierro.

**Tabla 4-4:** Medio de activación para levadura y bacteria

Metabolito secundario	g/L
Melaza	150
NaCl	2
MgSO <sub>4</sub>	0,3
FeSO <sub>4</sub>	0,02
MnSO <sub>4</sub>	0,02
Urea	15
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1
Biotina	0,02
Tiamina	0,02
<i>Saccharomyces peptona</i>	0,36

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

La activación de levadura y bacteria se realizó con melaza, NaCl: Cloruro de sodio, MgSO<sub>4</sub>: Sulfato de magnesio, FeSO<sub>4</sub>: Sulfato de hierro, MnSO<sub>4</sub>: Sulfato de manganeso, urea: CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>,

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ : Hidrógeno fosfato de amonio,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : fosfato dipotásico, Biotina, Tiamina y *Saccharomyces peptona*.

Inoculados el sustrato se dejó en crecimiento, en agitación constante (Ilustración 4-3) el indicador de que nuestro sustrato está listo es que la medida de la absorbancia sea mayor a 2 nm; se llevó un control de 3 mediciones para no sobrepasar estos límites establecidos por el banco de cepas para un desarrollo correcto de los sustratos unicelulares.



**Ilustración 4-4:** Agitación constante del cultivo de Sabouraud Dextrose Agar con los sustratos unicelulares

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

El bagazo de caña de azúcar se inoculo a 3 tiempos (0h, 24h 48h y 72h) para la Levadura y Bacteria a 500nm; y a 3 tiempos (0h, 4 días, 6 días y 12 días) para la espirulina y el pool de algas a 500nm; este procedimiento se efectuó mediante la técnica Bradford en ambos casos debido a que tiene un efecto directo con la turbiedad, estos procedimientos se llevan a cabo con la finalidad de superar la condición de proteína mínima para que sea reproducible en el bagazo correspondiente a  $>2$ . La consideración de los 3 tiempos distintos para la levadura y bacteria se toma en consideración de acuerdo con las especificaciones del banco de los sustratos.

**Tabla 4-5:** Análisis de turbidez en *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura)

Experimento	Tiempo 0	Tiempo 1 (24h)	Tiempo 2 (48h)	Tiempo 3 (72h)
L1	0,142	0,143	0,319	2,8
L2	0,128	0,13	0,239	2,2
L3	0,068	0,121	0,262	2,1
<b>L: Levadura</b>				

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis de turbidez en *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura) tabla 5-3 concluyo al tiempo 3(72h), para L1:2.8, L2: 2.2 y L3:1.9 de absorbancia.

**Tabla 4-6:** Análisis de turbidez en *Corynebacterium glutamato* (Bacteria)

Experimento	Tiempo 0	Tiempo 1 (24h)	Tiempo 2 (48h)	Tiempo 3 (72h)
B1	0,121	0,61	1,11	3,1
B2	0,083	0,585	1,76	3,33
B3	0,099	0,508	1,24	3,24
<b>B: Bacteria</b>				

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis de turbidez en *Corynebacterium glutamato* (Bacteria) Tabla 6-3 concluyo al tiempo 3(72h), para B1:3.1, B2: 3.33 y B3:3.24 de absorbancia.

**Tabla 4-7:** Análisis de turbidez en *Espirulina*

Experimento	Tiempo 0	Tiempo 1 (4 días)	Tiempo 2 (6 días)	Tiempo 3 (12días)
E1	0,377	1,26	1,69	2,3
E2	0,236	1,84	2	2,6
E3	0,359	1,53	1,98	2,2
<b>E: Espirulina</b>				

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis de turbidez en *Espirulina o* (Alga) tabla 7-3 concluyo al tiempo 3(12 días), para A1:2.3, A2: 2.6 y A3:2.2 de absorbancia.

**Tabla 4-8:** Análisis de turbidez en Pool de algas

Experimento	Tiempo 0	Tiempo 1 (4 días)	Tiempo 2 (6 días)	Tiempo 3 (12días)
A1	0,4	1,7	1,7	3,1
A2	0,2	1,23	1,8	2,9
A3	0,3	1,34	1,4	2,98
<b>A: Pool de algas</b>				

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis de turbidez en Pool de algas tabla 8-3 concluyo al tiempo 3(12 días), para A1:3.1, A2: 2.9 y A3:2.98 de absorbancia.

Cuando los sustratos unicelulares (Ilustración 5-3) y el bagazo de caña se encontraban en las condiciones establecidas se procedió a ensilar el material.



**Ilustración 4-5:** Sustratos unicelulares en condiciones óptimas para el experimento

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

Inocular el material orgánico consiste en agregar a 500gr de bagazo de caña, 500ml de sustrato unicelular, 27 g de melaza, 8 g de urea y 2 g de sal; paso fue repetitivo para los 4 sustratos experimentales con 3 réplicas en cada uno (Ilustración 6-3). Una vez agregado los reactivos mencionados se procede a eliminar el aire de las bolsas contenedoras de los experimentos para mantenerlos condiciones anaerobias. (Ilustración 7-3).



**Ilustración 4-6:** Inoculado del bagazo de caña con sustratos unicelulares

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.



**Ilustración 4-7:** Eliminación de aire de las bolsas

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

Inoculadas los experimentos las muestras se ensilaron y se dejaron en reposo por 45 días, tomando muestra para análisis de proteína a los 25, 30 y 45 días.



**Ilustración 4-8:** Ensilado de los experimentos

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

Terminado el proceso de ensilado los experimentos fueron sometidos al análisis bromatológico (Tabla 9-3) y proximal (Tabla 10-3).

**Tabla 4-9:** Análisis bromatológico de los sustratos unicelulares, ensilado a los 45 días

Sustrato Unicelular	Aroma	Color
Levadura (L)	frutal	café claro
Bacterias (B)	frutal	café claro
Espirulina (E)	frutal	verde
Pool de algas (A)	frutal	verde
<b>L:</b> Levadura; <b>B:</b> Bacterias; <b>E:</b> Espirulina; <b>A:</b> Pool de algas.		

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis bromatológico de los sustratos unicelulares se realizó cuando el material ensilado cumplió los 45 días, en características generales todos poseían un aroma particular a fruta y el color del bagazo con levadura y bacterias era de color café claro, las algas y pool de microalgas era de color verde.

El bagazo de caña proteinizado fue analizado en cada tipo de sustrato a los 25, 30 y 45 días, para valorar la concentración de proteína.

**Tabla 4-10:** Concentración de proteína a los 25, 30 y 40 días

Tipo de sustrato	N° de muestra	Tiempo (días)		
		25	30	45
Levadura	L1	5,14%	6,42%	8,89%
	L2	5,18%	7,27%	9,1%
	L3	5,78%	6,45%	9,2%
Bacteria	B1	4,24%	6,36%	8,99%
	B2	4,65%	6,78%	9,2%
	B3	3,28%	6,39%	9,5%
Espirulina	E1	30,89%	45,68%	53,78%
	E2	32,41%	45,34%	51,23%
	E3	33,72%	47,72%	53,57%
Pool de Algas	A1	26,7%	30,56%	54,8%
	A2	24,89%	30%	47,78%
	A3	25,41%	28,28%	52,4%
<b>L:</b> Levadura; <b>B:</b> Bacterias; <b>E:</b> Espirulina; <b>A:</b> Pool de algas.				

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

Obtenido los datos se procedió al análisis estadístico descriptivo (tabla 11-3), los datos se tabularon en Microsoft Excel última versión 2022, y el análisis de datos se realizó en IBM SPSS Statistics versión 25.

**Tabla 4-11:** Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Proteína (%)				
Tiempo (Días)	Sustratos unicelulares	Media	Desv. Desviación	N
25	Bacteria	4.0567	0.70316	3
	Espirulina	32.3400	1.41630	3
	Levadura	5.3667	0.35852	3
	Pool de algas	25.6667	0.93190	3
	Total	16.8575	12.95666	12
30	Bacteria	6.5100	0.23431	3
	Espirulina	46.2467	1.28722	3
	Levadura	6.7133	0.48232	3
	Pool de algas	29.6133	1.18816	3
	Total	22.2708	17.48841	12
45	Bacteria	9.2300	0.25632	3
	Espirulina	52.8600	1.41552	3
	Levadura	9.0633	0.15822	3
	Pool de algas	51.6600	3.56802	3
	Total	30.7033	22.57942	12
Total	Bacteria	6.5989	2.27516	9
	Espirulina	43.8156	9.14833	9
	Levadura	7.0478	1.64976	9
	Pool de algas	35.6467	12.28468	9
	Total	23.2772	18.50677	36

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis descriptivo se efectuó con las 12 muestras, se obtuvo los valores de media y desviación estándar, para analizar la dispersión de los datos y relación con su media, a mayor desviación estándar, mayor será la dispersión de los datos. En la tabla 11-3 se puede observar que mayor desviación presenta la espirulina en todas las mediciones efectuadas.

En el análisis de varianza ANOVA intrasujetos se contrasta la hipótesis de igualdades de las medias de muestras recogidas en los mismos tipos de sustratos, la tabla 12-3 presenta un valor de  $p = 0,000$  con lo cual se acepta la hipótesis alternativa de esta investigación “el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar se logra utilizando sustratos unicelulares”.

**Tabla 4-12:** Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Proteína (%)					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	11944,161 <sup>a</sup>	11	1085.833	601.050	0.000
Intersección	19505.847	1	19505.847	10797.225	0.000
Tiempo (Días)	1168.473	2	584.237	323.397	0.000
Sustratos unicelulares	10047.492	3	3349.164	1853.889	0.000
Tiempo * Sustrato	728.196	6	121.366	67.181	0.000
Error	43.357	24	1.807		
Total	31493.365	36			
Total corregido	11987.518	35			

a. R al cuadrado = ,996 (R al cuadrado ajustada = ,995)

**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

La prueba Tukey al 5 % de error se usa en experimentos que implican un número elevado de comparaciones en esta investigación se verifico que los experimentos presentan  $p = 0,000$  lo que indica que la concentración de proteína aumenta con relación al tiempo (tabla 4-13), que se evalúa a los 25, 30 y 45 días, esto quiere decir que el factor tiempo es estadísticamente significativo en el aumento proteico en el bagazo de caña de azúcar, esto también lo podemos corroborar con el índice de aumento proteico realizado en pares como de 25 a 30 existió un porcentaje de crecimiento de 43.001 %, mientras que de 30 a 45 un porcentaje de 14.30 % ,pero la comparación entre 25 y 45 da un porcentaje de aumento proteico de 63.45 % indicando una supremacía frente a los demás pares comparados, de tal manera es importante aclarar que el tiempo de contacto del sustrato(bagazo de caña) con la espirulina corresponde a 45 días, que en comparación con el trabajo (Vega & Verduzco 2016) que indica un porcentaje de proteína del 74 % en 9 días mientras que en nuestro trabajo de investigación se obtuvo un 52.86 % de proteína en 45 días, la diferencia significativa se debe a que no se trabajó en el medio específico (Zarrouk) y se adaptó con compuestos de grado agrícola y no de grado analítico causando divergencia en los resultados frente a otras investigaciones.

**Tabla 4-13:** Comparaciones múltiples 1

Variable dependiente: Proteína (%)						
HSD Tukey						
(I) Tiempo (Días)	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
25	30	-5,4133*	0.54872	0.000	-6.7836	-4.0430
	45	-13,8458*	0.54872	0.000	-15.2161	-12.4755
30	25	5,4133*	0.54872	0.000	4.0430	6.7836
	45	-8,4325*	0.54872	0.000	-9.8028	-7.0622
45	25	13,8458*	0.54872	0.000	12.4755	15.2161
	30	8,4325*	0.54872	0.000	7.0622	9.8028

Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática (Error) = 1,807.  
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El valor de significancia que presentan la levadura y la bacteria es de 0.893 (tabla 14-3), no existe diferenciación en el laboratorio al trabajar con esos sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar.

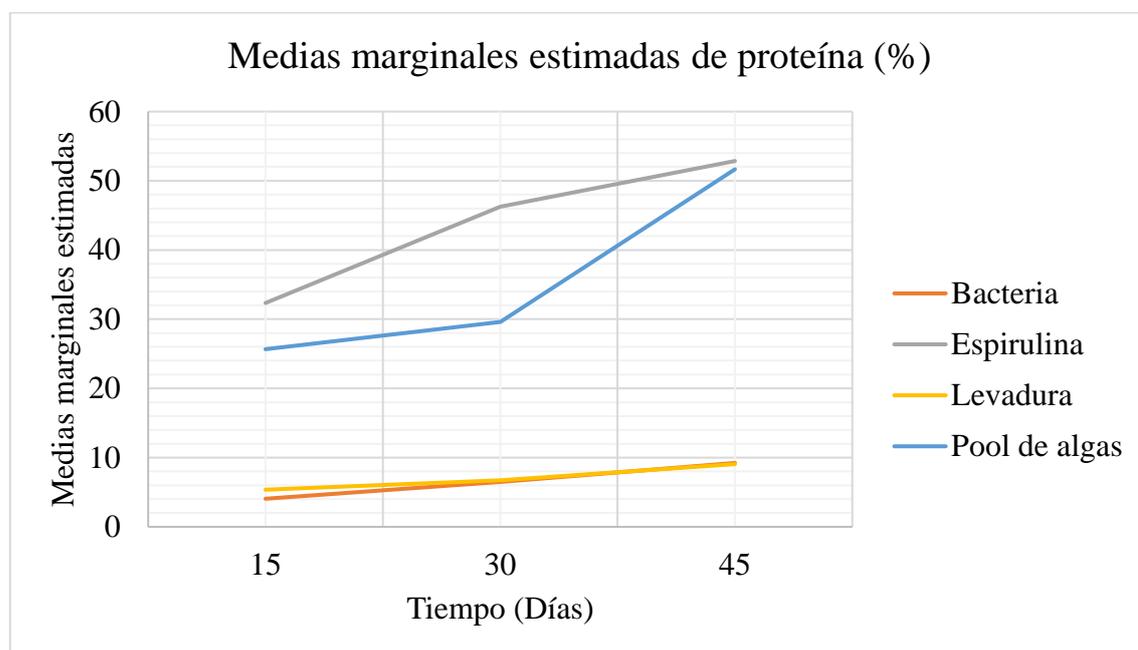
**Tabla 4-14:** Comparaciones múltiples 2

Variable dependiente: Proteína (%)						
HSD Tukey						
(I) Sustrato unicelulares	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
Bacteria	Espirulina	-37,2167*	0.63361	0.000	-38.9645	-35.4688
	Levadura	-0.4489	0.63361	0.893	-2.1968	1.2990
	Pool de algas	-29,0478*	0.63361	0.000	-30.7957	-27.2999
Espirulina	Bacteria	37,2167*	0.63361	0.000	35.4688	38.9645
	Levadura	36,7678*	0.63361	0.000	35.0199	38.5157
	Pool de algas	8,1689*	0.63361	0.000	6.4210	9.9168
Levadura	Bacteria	0.4489	0.63361	0.893	-1.2990	2.1968
	Espirulina	-36,7678*	0.63361	0.000	-38.5157	-35.0199
	Pool de algas	-28,5989*	0.63361	0.000	-30.3468	-26.8510
Pool de algas	Bacteria	29,0478*	0.63361	0.000	27.2999	30.7957
	Espirulina	-8,1689*	0.63361	0.000	-9.9168	-6.4210
	Levadura	28,5989*	0.63361	0.000	26.8510	30.3468

Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática (Error) = 1,807.  
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis estadístico presenta como sustrato unicelular eficiente a la espirulina (Ilustración 9-3).



**Ilustración 4-9:** Medias marginales estimadas de proteína

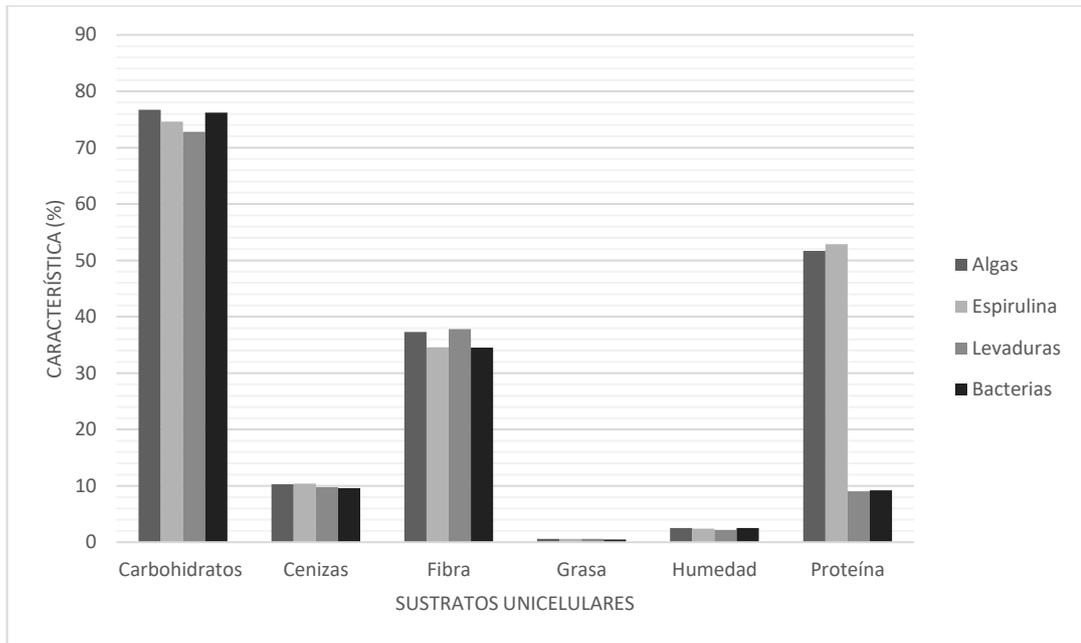
Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

El análisis proximal a excepción del contenido de proteína del bagazo de caña inoculado con sustratos unicelulares se realizó en el Laboratorio de análisis de Alimentos y productos procesados “LASA”. El contenido de proteína se obtuvo por el método Kjeldahl mediante y el valor que se describe a continuación es la media de los experimentos a los 45 días de ensilado.

**Tabla 4-15:** Análisis proximal del bagazo de caña inoculados con sustratos unicelulares

Característica (%)	Sustratos Unicelulares			
	Pool de algas	Espirulina	Levaduras	Bacterias
Carbohidratos	76,7	74,6	72,8	76,2
Cenizas	10,3	10,4	9,8	9,6
Fibra	37,3	34,6	37,8	34,5
Grasa	0,6	0,6	0,6	0,5
Humedad	2,5	2,4	2,2	2,5
Proteína	51,66	52,86	9,06	9,23

Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.



**Ilustración 4-10:** Análisis proximal del bagazo de caña inoculados con sustratos unicelulares  
**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

En el análisis proximal del bagazo de caña inoculado con sustratos unicelulares, las características evaluadas fueron carbohidratos, cenizas, fibra, grasa, humedad y proteína; Se puede recalcar de este análisis que la levadura presentó el mayor porcentaje de carbohidratos y fibra 72.8% y 37.8%, respectivamente; la espirulina el mayor porcentaje de ceniza y proteína correspondiente al 10.4% y 55.6%, respectivamente; el porcentaje de grasa se presentó en un 0,6% para algas, espirulina y levaduras y 0,5% en bacterias; el mayor contenido de humedad se encontró en algas y bacterias con el 2.5%.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- Se evaluó a cuatro sustratos unicelulares para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña, activando las cepas de sustratos unicelulares de *Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium glutamato*, *arthrospira platensis* (espirulina) y pool de algas con protocolos descritos por el banco de muestras del laboratorio de biotecnología del Ingenio Azucarero Del Norte Compañía De Economía Mixta “IANCEM”, posterior al enriquecimiento proteico del bagazo de caña inoculado con sustratos unicelulares durante 45 días.
- Se obtuvo proteína unicelular en bagazo de caña de azúcar a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium glutamato*, *arthrospira platensis* (espirulina) y pool de microalgas, el tiempo de inoculación del material se lo realizó en 45 días, con intervalos de análisis de proteína por el método Kjeldahl a los 20,30 y 45 días de ensilado, los cuatro sustratos fueron evaluados en tres repeticiones de experimentos, para conocer la concentración de proteína, se realizó un análisis estadístico descriptivo y el valor se representa como la media de los experimentos, para el sustrato de *Saccharomyces cerevisiae* se tiene 9,06% de contenido de proteína, *Corynebacterium glutamato* 9,23% de contenido de proteína, *arthrospira platensis* (espirulina) 52,86% de contenido de proteína y pool de microalgas 51,66% de contenido de proteína.
- Se realizó análisis bromatológico al bagazo de caña inoculado con los sustratos unicelulares, a los 45 días, resultando como características el aroma frutal para todos los sustratos, y el color café claro para la levadura y bacteria, y color verde para la espirulina y pool de algas, mediante base metodológica de color y olor, mientras que para el análisis proximal se obtuvo los siguientes resultados para espirulina: Carbohidrato de 74,6 %, Cenizas 10,4 %, Fibra 34,6 %, Grasa 0,6 %, Humedad 2,4 %, Proteína 52,86 % esto mediante el método para cenizas, grasa y humedad por gravimetría, mientras que para proteína por cálculo, para fibra ICC Standard 113 y Proteína Kjeldahl.
- Se determinó mediante análisis estadístico ANOVA y Tukey el sustrato con mayor eficiencia para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña a la espirulina con 52,86% y como sustratos que no poseen diferenciación experimental a la bacteria con 9,23% y levadura con

9,06% contenido de proteína, de la misma manera se identificó mediante el análisis estadístico la influencia directa que tiene el tiempo sobre el aumento proteico (variable dependiente)

## **5.2. Recomendaciones**

- Emplear mayor tiempo de inoculación al bagazo de caña con los sustratos unicelulares espirulina y pool de algas para evaluar si aumenta la concentración de proteína, debido a que estas sustancias fueron las que presentaron una mejor eficiencia en este trabajo de investigación.
- Estudiar más sustratos orgánicos con el fin de recolectar información para inocular otros materiales procedentes de actividades agroindustriales para producir proteína unicelular y cubrir las necesidades nutricionales que requiere la dieta humana.
- Realizar un análisis costo-beneficio para conocer a su vez las ventajas y desventajas de una producción a escala industrial de proteína unicelular.
- Fomentar el tipo de investigaciones que involucra el uso de residuos agroindustriales que generen beneficios y bienestar a la sociedad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ABALDE, J.; et al.** *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones* [en línea]. La Coruña-España: Universidade, Servizo de Publicacións, 1995. [Consulta: 27 noviembre 2021]. ISBN 9788497497695. Disponible en: <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
2. **AGROTEC.** ¿Qué es la Biotecnología? *AGROTEC del sureste* [en línea]. 2019. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.agrotec.com.mx/que-es-la-biotecnologia/>.
3. **ÁLVAREZ, L., & RODRÍGUEZ, J.** Alimentos enriquecidos. *Consumer* [en línea]. 2005. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/alimentos-enriquecidos.html>.
4. **ARRANZ, N., & ARRANZ, L.** Bromatología, la ciencia de los alimentos. *BIOECO* [en línea]. 2019. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.bioecoactual.com/2019/09/04/bromatologia-la-ciencia-los-alimentos/>
5. **BRAVO, Á., & VELEZ, R.** Degradación del ensilaje del bagazo de caña de azúcar amonificado a distintos tiempos de fermentación como alimento del ganado bovino en época seca [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. Manabí-Ecuador. 2019. págs. 1-92. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.esпам.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1076/TTMZ3.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. **CATALÁN, R.** Análisis Proximales en Alimentos. *TECNOSOLUCIONES* [en línea]. 2021. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://tecnosolucionescr.net/blog/278-analisis-proximales-en-alimentos>
7. **CHACÓN, A.** “Agronomía Mesoamericana”. *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2004, vol. 15 (1), págs. 93–106. [Consulta: 24 noviembre 2021]. ISSN 1021-7444. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43715114>.
8. **COLCHA, M., & MORILLO, S.** Determinación del medio de cultivo adecuado para la magnificación de la producción de *Saccharomyces Cerevisiae* (CE-1118) y liofilización del

producto obtenido con fines comerciales. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba-Ecuador. 2016. págs. 1-71.

9. **FAO.** La seguridad alimentaria futura del mundo pelagra debido a múltiples desafíos. *FAO* [en línea]. 2021. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/news/story/es/item/471772/icode/>
10. **FERNÁNDEZ, C., & BAPTISTA, P.** *Metodología de la investigación* [en línea]. Sexta. México: Mc Graw Hill Education. 2014. [Consulta: 27 noviembre 2021]. ISBN 987-1-4562-2396-0. Disponible en: <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>
11. **FORERO, V.; et al.** Producción industrial de proteína unicelular a partir de microorganismos: una perspectiva actual. *ReCiTeIA* [en línea]. 2021. [Consulta: 9 Marzo 2022]. Disponible en: <http://revistareciteia.es.tl/>
12. **GARCÍA, E., & SEGOVIA, I.** Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte. España: Politécnica de Valencia. 2012. págs. 1-6.
13. **GÓMEZ, F.** Aprovechamiento integral de microalgas: biorrefinerías. *Madrimasd* [en línea]. 2016. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.madrimasd.org/blogs/espirlina/>
14. **GOOGLE.** Ingenio Azucarero del Norte Compañía de Economía mixta “IANCEM.” [en línea]. 2021. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.google.com.ec/maps/place/INGENIO+AZUCARERO+DEL+NORTE/@0.4830611,-78.0895483,15z/data=!4m5!3m4!1s0x8e2a2e329363cbff:0x4198156f5c8883c0!8m2!3d0.4789552!4d-78.0981107?hl=es>
15. **IBERDROLA.** La importancia de la seguridad alimentaria: ¿qué factores la ponen en peligro? *SEGURIDAD ALIMENTARIA* [en línea]. 2021. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.iberdrola.com/compromiso-social/que-es-seguridad-alimentaria>
16. **IDEAGRO.** ¿Qué es el ensilaje? *Ideagro* [en línea]. 2021 [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.ideagro.com/single-post/2018/11/20/-que-es-el-ensilaje>

17. **IRANZO, M.** Glutamato de sodio. *Ciencia y biotecnología* [en línea]. 2015. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.mariairanzobiotec.com/glutamato-de-sodio/>
18. **ITW REAGENTS.** Determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl. [en línea]. S.l.: ITW. 2021. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: [https://www.itwreagents.com/download\\_file/brochures/A173/es/A173\\_es.pdf](https://www.itwreagents.com/download_file/brochures/A173/es/A173_es.pdf)
19. **ELFERINK, J.; et al.** Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. *FAO* [en línea]. 2001 S.l.: [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/X8486S/x8486s04.htm>
20. **LAGOS-BURBANO, E., & CASTRO-RINCÓN, E.** “Caña de azúcar y subproductos de la agroindustria azucarera en la alimentación de rumiantes”. *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2019, vol. 30(3), págs. 917–934. [Consulta: 27 noviembre 2021]. ISSN 2007-0705. DOI 10.21640/ns.v6i12.37. Disponible en: [redalyc.org/journal/437/43760145020/html/](http://redalyc.org/journal/437/43760145020/html/)
21. **LIRA, C.** *Corynebacterium glutamicum*: características, morfología, cultivo. *Lifeder* [en línea]. 2020. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/corynebacterium-glutamicum>
22. **O’NEAL, K.** Ensilado: una alternativa para la alimentación de ganado en épocas críticas. *Universidad de Costa Rica* [en línea]. 2017. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.ucr.ac.cr/noticias/2017/09/20/ensilado-una-alternativa-para-la-alimentacion-de-ganado-en-epocas-criticas.html>
23. **ONU.** Hambre y seguridad alimentaria – Desarrollo Sostenible. *Naciones Unidas* [en línea]. 2021. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/>
24. **PERNALETE, Z.; et al.** “Fraccionamiento del bagazo de caña de azúcar mediante tratamiento amoniacal: efecto de la humedad del bagazo y la carga de amoníaco”. *Bioagro* [en línea], 2008 vol. 20 (1), págs. 3–10. [Consulta: 27 noviembre 2021]. ISSN 1316-3361. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612008000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612008000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

25. **REIHANI, S.F.S., & KHOSRAVI-DARANI, K.** “Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: A review”. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 37, págs. 34–40. ISSN 0717-3458. DOI 10.1016/J.EJBT.2018.11.005
26. **SHARIF, M.; et al.** “Single cell protein: Sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in aquaculture nutrition”. *Aquaculture*, vol. 531. ISSN 00448486. DOI 10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735885
27. **TACON, A.** Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados manual de capacitaciones. *FAO* [en línea]. 1989. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/ab492s/ab492s09.htm>.
28. **VELP.** El método Kjeldahl. *Velp* [en línea]. 2020. [Consulta: 24 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.velp.com/es-sa/el-metodo-kjeldahl-1.aspx>.
29. **VILLA, M.** Pasado, actualidad y futuro de la biotecnología de microalgas. *Ainia* [en línea]. 2010. [Consulta: 27 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.ainia.es/insights/pasado-actualidad-y-futuro-de-la-biotecnologia-de-microalgas/>.

## ANEXOS

### ANEXO A: RESIDUOS AGROINDUSTRIAL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR



Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

### ANEXO B: REDUCCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR



Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

## ANEXO C: MEDIOS DE ACTIVACIÓN PARA LOS SUSTRATOS UNICELULARES



Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

## ANEXO D: BAGAJO DE CAÑA PROTEINIZADO



Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

## ANEXO E: BAGAZO DE CAÑA PROTEINIZADO Y SELLADOS AL VACÍO



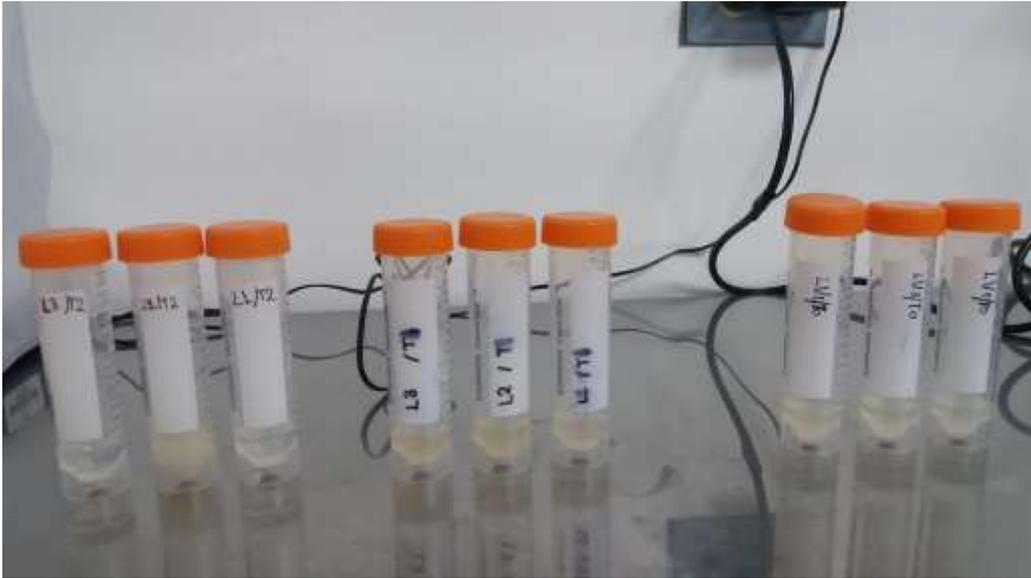
Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

## ANEXO F: ENSILADO DEL BAGAZO DE CAÑA PROTEINIZADO



Realizado por: Flores, Jennyfer, 2022.

**ANEXO G: MUESTRA DE SUSTRATOS UNICELULARES RESULTANTES DEL ANÁLISIS DE KJEDHAL**



**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.

**ANEXO H: EXPERIMENTOS PREPARADOS PARA ENVIAR ANÁLISIS EN EL LABORATORIO LASA**

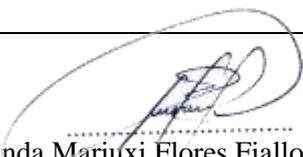
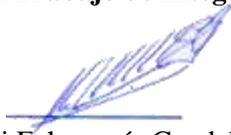


**Realizado por:** Flores, Jennyfer, 2022.



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA**  
**NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO**

**Fecha de entrega:** 07/ 06/ 2024

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Jennyfer Cristina Flores Taez
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Química
<b>Título a optar:</b> Química
 Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos, MSc. <b>Firma de la Directora del Trabajo de Integración Curricular</b>
 Ing. Magdy Mileni Echeverría Guadalupe, PhD. <b>Firma de la Asesora del Trabajo de Integración Curricular</b>