

Producción de biomasa líquida de levaduras cerveceras en un medio de cultivo alternativo

Maciel, N. 

Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biotecnología. Carrera de Biotecnología

* E-mail del autor: nayadegisselle@gmail.com

Producción de biomasa líquida de levaduras cerveceras en un medio de cultivo alternativo.

Las levaduras, especialmente las que pertenecen a la familia Saccharomycetaceae, se utilizan desde hace siglos para la obtención de diversos productos, como lo son los alimentos y bebidas fermentadas. En este sentido, la elevada demanda de los productos de fermentaciones en las últimas décadas ha generado un aumento en la producción de biomasa de levadura a nivel industrial. En particular, en Paraguay, ha aumentado el número de cervecerías artesanales, quienes mayoritariamente importan la materia prima como levadura seca, debido a las facilidades que esta presenta en cuanto al costo y mantenimiento. Teniendo en cuenta esta brecha aprovechable, se comparó el crecimiento de dos levaduras cerveceras; *Saccharomyces cerevisiae* SafAle US-05 empleada para la fabricación de cerveza tipo Ale y *Saccharomyces pastorianus* SafLager S-23 utilizada para la fabricación de cerveza tipo Lager en el medio de cultivo tradicional YPD y en un medio de cultivo alternativo a base de melaza de caña clarificada; las fermentaciones de las levaduras se realizaron en matraces para una evaluación preliminar del comportamiento de las mismas en la formulación del medio utilizado. Como resultado principal obtenido tenemos que el Nivel de Biomasa de *S. cerevisiae* en YPD fue de 16,57 g/L y en el medio alternativo fue de 12,96 g/L; mientras que, en *S. pastorianus* fue de 14,22 g/L y 9,37 g/L. El nivel de biomasa aceptable nos indica que la producción de biomasa líquida de ambas levaduras cerveceras mediante fermentación en medio a base de melaza, resulta ser un proceso biotecnológico factible y rentable.

Palabras clave: *Saccharomyces*, biomasa líquida, melaza de caña

Brewer's yeast liquid biomass production in an alternative culture medium. Yeasts, especially those belonging to the Saccharomycetaceae family, have been used for centuries to obtain various products, such as fermented foods and beverages. In this sense, the high demand for fermentation products in recent decades has generated an increase in the production of yeast biomass at an industrial level. In particular, in Paraguay, the number of craft breweries has increased, who mostly import the raw material as dry yeast, due to the facilities that it presents in terms of cost and maintenance. Taking into account this usable gap, it is compared the growth of two brewing yeasts *Saccharomyces cerevisiae* SafAle US-05 used for the manufacture of Ale type beer and *Saccharomyces pastorianus* SafLager S-23 used for the manufacture of Lager type beer in the traditional culture medium YPD and in an alternative culture medium based on clarified cane molasses; The yeast fermentations were ca-

ried out in flasks for a preliminary evaluation of their behavior in the formulation of the medium used. The main result obtained is that the Biomass Level of *S. cerevisiae* in YPD was 16.57 g/L and in the alternative medium it was 12.96 g/L; while in *S. pastorianus* it was 14.22 g/L and 9.37 g/L. The acceptable biomass level indicates that the production of liquid biomass of both brewers' yeasts by fermentation in a molasses-based medium turns out to be a feasible and profitable biotechnological process.

Keywords: *Saccharomyces*, liquid biomass, cane molasses

INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas los procesos fermentativos son utilizados ampliamente para la obtención de productos de interés como metabolitos, biomasa, fármacos, alimentos, etc. La biotecnología es la encargada de optimizar estos procesos de producción de una forma rentable, es decir con un enfoque en la reducción de costos y aumento rendimiento y productividad (Cardozo y Moreno, 2012; Singh, et al., 2017).

La utilización de subproductos procedentes del sector agroindustrial parece responder a ambas necesidades, ya que aporta a la disminución de posibles contaminantes, disminuye los costos de producción, se encuentran altamente disponibles y al ser una fuente rica en carbohidratos podría aumentar la productividad del proceso (Grande, 2016). La melaza de caña de azúcar es un subproducto de la industria azucarera la cual tiene diversas aplicaciones industriales, debido a su alto porcentaje de carbono orgánico, vitaminas, aminoácidos, etc. (Valencia y Zapata, 2014).

Saccharomyces sp., es la levadura productora de etanol por excelencia, ampliamente utilizada para la elaboración de pan y bebidas alcohólicas. Las levaduras *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* son las más utilizadas en la producción de cerveza, que es una de las bebidas alcohólicas más consumidas a nivel mundial (Ferreira, et al., 2010).

A nivel nacional se produce levadura seca y fresca para la industria panadera, utilizando melaza de caña como fuente de carbono; pero no se produce levadura cervecera, lo que genera la ne-

cesidad de importarlas como casi todos sus insumos para la producción, esto podría ser una brecha aprovechable por profesionales nacionales de las diferentes áreas.

El objetivo de este trabajo es producir biomasa líquida de levaduras cerveceras utilizando un medio alternativo a base de melaza de caña clarificada como fuente de carbono, analizando parámetros estequiométricos y cinéticos del proceso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Puesta a punto y validación de métodos analíticos de cuantificación

Los siguientes ensayos se aplicaron en los métodos de cuantificación de sustrato en estudio, a fin de demostrar que los mismos cumplen con las características de desempeño adecuadas para su uso (Instituto de Salud Pública de Chile, 2010).

Ensayo de Linealidad

Se prepararon por triplicado 5 concentraciones independientes de cada estándar con el fin de abarcar el rango lineal de absorbancia del espectrofotómetro.

Ensayo de Precisión

Se prepararon soluciones testigos que fueron analizadas con los respectivos métodos de cuantificación. Para los métodos de cuantificación de glucosa y azúcares reductores se utilizó una solución testigo de glucosa de 1,5 g/L de concentración. Se analizaron 20 réplicas de la solución tes-

tigo en dos días diferentes (10 réplicas por día).

Ensayo de Veracidad

Se prepararon por quintuplicado, soluciones de concentración conocida de glucosa empleando como solvente al medio de cultivo (matriz) a utilizar. Luego se analizaron las soluciones con el método de cuantificación correspondiente aplicando la curva de calibración realizada con el respectivo estándar, a fin de determinar el porcentaje de recuperación de cada analito.

Cuantificación enzimática de glucosa

Para la cuantificación de glucosa se utilizó el reactivo enzimático provisto por el kit comercial de glicemia enzimática de Human. Se realizó una solución stock de 4 g/L de dextrosa anhidra (Anebra, Argentina) a partir de la misma se realizaron diluciones seriadas para obtener 5 puntos de calibración (0,25 g/L; 0,5 g/L; 1 g/L; 2 g/L y 4 g/L). Además, se preparó una solución testigo de glucosa con una concentración de 1,5 g/L; así como también se preparó un blanco correspondiente a la matriz analizada, sin agregado de glucosa, se utilizó agua destilada como blanco de reacción de los estándares y del testigo. Siguiendo las instrucciones del fabricante del kit comercial, en tubos de ensayo de vidrio se colocaron 10 µl de las soluciones preparadas y se agregó 1 mL del reactivo provisto por el kit, luego se homogeneizó. Posteriormente se incubó a temperatura ambiente por 10 min, finalmente se midió la absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro.

Cuantificación de azúcares reductores totales

Se prepararon por triplicado 5 concentraciones del estándar a fin de abarcar el rango lineal de absorbancia del espectrofotómetro. Las concentraciones utilizadas para el método de cuantificación de azúcares reductores fueron: 0,25 g/L; 0,5 g/L; 1 g/L; 2 g/L y 4 g/L utilizando como material de referencia glucosa. Asimismo, se preparó una solución testigo de glucosa con una concentra-

ción de 1,5 g/L; se preparó un blanco correspondiente a la matriz analizada, sin azúcares, se utilizó agua destilada como blanco de los estándares y del testigo.

Siguiendo la metodología propuesta por Avila et al. (2012) se realizó la preparación del reactivo de DNS: Se pesó 1 g de 3,5-ácido dinitrosalicílico, 30 g de tartrato de sodio y potasio y 1,6 g de hidróxido de sodio (Merck, Alemania). Se disolvió el hidróxido de sodio en 40 mL de agua destilada y se añadió lentamente el tartrato de sodio y potasio en agitación. Se completó con agua destilada hasta 80 mL y se agregó lentamente el 3,5-ácido dinitrosalicílico. Se dejó en agitación toda la noche, se enrazó a 100 mL y se filtró con papel de filtro cualitativo.

Para el ensayo se mezclaron en tubos de ensayo 0,5 mL de cada solución estándar o muestra y 0,5 mL del reactivo de DNS. Se llevaron los tubos a ebullición en baño con agua durante 5 min y luego se enfriaron en hielo. Se añadieron 5 mL de agua destilada y se dejó reposar por 15 min, finalmente se midió la absorbancia por espectrofotometría a 540 nm.

Medio de cultivo a base de melaza de caña

La melaza de caña de la composición del medio de cultivo alternativo utilizado para el crecimiento de las cepas de levaduras, se obtuvo de manera comercial (COPALSA, Paraguay). La composición del medio de cultivo fue provista por el Dr. Diego Nosedá de la UNSAM y fue la siguiente: 41,4 mL/L de melaza de caña (COPALSA, Paraguay), 8,25 g/L de sulfato de amonio (Merck, Alemania), 2,5 g/L de cloruro de potasio, 0,85 g/L fosfato de monoamónico (Merck, Alemania), 0,3 g/L de sulfato de magnesio, 2,5 mL/L de ácido fosfórico y 1 mL/L de hidróxido de amonio. La preparación del medio consistió en disolver 41,4 mL de melaza de caña en 1 L de agua destilada estéril, posteriormente se clarificó mediante centrifugación a 8000 rpm por 10 min y luego se agregaron las sales mencionadas, pos-

teriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C, a 1 atm por 20 min.

Determinación de la relación entre densidad óptica y peso seco de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*

Se realizaron curvas de calibración entre la densidad óptica a 600 nm (DO_{600}) y el peso seco de biomasa para las cepas de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus*, empleando la misma metodología para ambas levaduras.

Para tal fin, stocks en glicerol de cada cepa se sembraron en placas de Petri con YPD agar (Conda Lab S.A., España) (extracto de levadura 10 g/L, peptona de carne 20 g/L, glucosa 20 g/L, agar-agar 20 g/L) y se incubaron a 30°C por 48 h. A partir de la biomasa crecida en dichas placas se inocularon en matraz Erlenmeyer de 100 ml conteniendo 20 ml de medio complejo YPD (extracto de levadura 10 g/L, peptona de carne 20 g/L, glucosa 20 g/L). Los matraces Erlenmeyer se incubaron en un thermoshaker durante 40 h a 30°C y 200 rpm. A partir de la biomasa de los cultivos líquidos se realizaron diluciones seriadas con agua destilada estéril, a las cuales se les determinó la DO_{600} por espectrofotometría. Asimismo, alícuotas de 5 ml de cada dilución se centrifugaron en una centrifuga Eppendorf HERMLE Z216 a 5000 rpm durante 20 min. Luego, se descartaron los sobrenadantes y los precipitados celulares se llevaron a sequedad total en una estufa FANEM 520 a 60°C hasta peso constante. Se determinó el peso seco de la biomasa expresado en g/L para cada dilución analizada. A partir de estos valores se construyeron las curvas de calibración entre DO_{600} y el peso seco de biomasa (g/L) para ambas levaduras.

Para determinar los valores de peso seco de biomasa en g/L a partir de valores de DO_{600} de cultivos considerando el blanco del medio de cultivo, se emplearon las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1 - Biomasa (g/L) de *S. cerevisiae*:

$$\frac{D.O.(600nm)}{1,4272}$$

Ecuación 2 - Biomasa (g/L) de *S. pastorianus*:

$$\frac{D.O.(600nm)}{1,6398}$$

Evaluación del crecimiento de las cepas de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en medio YPD y en medio a base de melaza de caña

Las cepas de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en medio YPD y en medio a base de melaza de caña en matraces Erlenmeyer; primeramente, los stocks se utilizaron para sembrar placas de Petri con YPD agar o en medio a base de caña agar las mismas se incubaron a 30 °C por 48 h. La biomasa crecida en ambas placas se inoculó por duplicado en matraces Erlenmeyer de 100 mL conteniendo 20 mL de medio YPD y los matraces se incubaron a 30 °C y 200 rpm por 48 h en agitador. Posteriormente se determinó la DO_{600} por espectrofotometría.

Estos cultivos fueron utilizados para inocular en una relación 1:10 en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 mL de YPD o en medio a base de caña. Los frascos fueron incubados a 30 °C y 200 rpm en agitador. Se tomaron muestras de los cultivos periódicamente para evaluar su crecimiento por medio de la DO_{600} , para evaluar el consumo de glucosa y azúcares reductores mediante espectrofotometría, así como también para determinar los parámetros cinéticos y estequiométricos del crecimiento de ambas cepas en ambos medios de cultivo. Para el cálculo de los parámetros cinéticos se emplearon las siguientes ecuaciones:

Ecuación 3 - Rendimiento en función de glucosa consumida:

$$Y_{x/s} (g_x/g_s): \frac{X_2 - X_1}{S_2 - S_1}$$

Ecuación 4 - Rendimiento en función de azúcares reductores consumidos:

$$Y_{x/s} (g_x/g_s): \frac{X2 - X1}{-(S2 - S1)}$$

Ecuación 5- Velocidad específica máxima de crecimiento:

$$\mu_{max} (h^{-1}): \frac{\ln X2 - \ln X1}{t2 - t1}$$

Ecuación 6 -Productividad volumétrica máxima:

$$P_{vMax} (g/Lh): \frac{X \text{ final}}{t \text{ total}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Puesta a punto y validación de métodos analíticos de cuantificación

En la Tabla 1 se observa un resumen de los resultados obtenidos para los ensayos de validación de los métodos de cuantificación de glucosa y azúcares reductores.

Los resultados obtenidos indican que las metodologías utilizadas son adecuadas; ya que mostraron una apropiada precisión y veracidad, por lo que son aptas para su aplicación. De este modo, con las metodologías de cuantificación puestas a

punto y validadas, se consiguieron herramientas confiables para el análisis del proceso de producción de biomasa de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus*, además se establecieron controles de los resultados aplicando los gráficos de control de valor medio para cada método.

Determinación de la relación entre densidad óptica y peso seco de la biomasa de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus*

Se cuantificó el peso de los precipitados secos de *S. cerevisiae* crecido en medio líquido YPD y se graficó la curva de calibración de DO₆₀₀ vs el peso seco de biomasa (g/L). A partir del ajuste lineal de la curva de calibración se obtuvo la ecuación de la recta $y = 1,4272x$ con un R² de 0,9992. De este modo se logró relacionar la densidad óptica celular con el peso seco de biomasa de *S. cerevisiae*.

Del mismo modo, se cuantificó el peso de los precipitados secos de *S. pastorianus* crecido en medio líquido YPD y se graficó la curva de calibración entre DO₆₀₀ y el peso seco de biomasa (g/L). A partir del ajuste lineal de la curva de calibración se obtuvo la ecuación de la recta $y = 1,6398x$ con un R² de 0,9998. De este modo se logró relacionar la densidad óptica celular con el peso seco de biomasa de *S. pastorianus*.

Tabla 1. Resultados de los ensayos de validación y puesta a punto aplicado a las metodologías de cuantificación de glucosa y azúcares reductores, con su respectivo criterio de aceptación

ENSAYO	Cuantificación de Glucosa		Cuantificación de Azúcares reductores	
	Medio YPD	Medio a base de Melaza de caña	Medio YPD	Medio a base de Melaza de caña
Linealidad (R2 ≥ 0,995)	0,9957		0,9995	
Precisión (RSD% < 5 %)	2,87 %		1,78 %	
Veracidad (95 % < % recuperación < 105 %)	100,5 %	99 %	104 %	99 %

Evaluación del crecimiento de las cepas de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en medio YPD y en medio a base de melaza de caña

El crecimiento de ambas cepas de *Saccharomyces* fue evaluado primeramente en medio de cultivo comercial YPD. En medio comercial YPD *S. cerevisiae* consumió la totalidad de la glucosa y de los azúcares reductores luego de 28 h de incubación. Así, a dicho tiempo se alcanzó un nivel máximo de biomasa de 16,57 g/L; lo que corresponde a un rendimiento de biomasa en función de glucosa consumida ($Y_{x/s}$) de 0,81 gx/gs y un rendimiento de biomasa en función de los azúcares reductores consumidos ($Y_{x/s}$) de 0,67 gx/gs, mientras que *S. pastorianus* consumió la totalidad de glucosa y de los azúcares reductores luego de 32 h de incubación, momento en el cual se alcanzó un nivel máximo de biomasa de 14,22 g/L, lo que corresponde a un rendimiento en base al consumo de glucosa ($Y_{x/s}$) de 0,67 gx/gs, así como también a un rendimiento en función de los azúcares reductores consumidos ($Y_{x/s}$) de 0,52 gx/gs.

En las Figuras 1 y Figura 2, se puede observar que la fase de adaptación ocurre durante las primeras 6 a 7 h en ambos cultivos; en cambio si comparamos la fase exponencial de *S. cerevisiae* de aproximadamente 13 h con la de *S. pastorianus* que tuvo una duración de más de 20 h, así como también podemos observar que se obtuvo 16,57 g/L y 14,22 g/L de biomasa, respectivamente.

Estas dos diferencias son debido a las condiciones de crecimiento, principalmente temperatura (30°C) si bien los rangos de temperaturas óptimos para cada especie de *Saccharomyces* varía desde 20° C hasta 30 °C, *S. pastorianus* es una cepa de fermentación óptima baja. Cardozo y Moreno (2012), describieron el crecimiento de *S. cerevisiae* en medio de cultivo YPD obteniendo la siguiente curva de crecimiento: fase de adaptación durante las 2 primeras h, la fase exponencial desde las 2 h hasta las 8 h de crecimiento y la fase de estacionaria de 8 h a 12 h; los tiempos de duración de cada fase tienen una clara diferencia con los conseguidos en los ensayos; esto es debido al origen de las cepas; la cepa utilizada por Cardozo y Moreno (2012) fue provisto por un laboratorio conservado en 30% de glicerol a -20°C, mientras que las cepas utilizadas en los ensayos son cepas liofilizadas de origen comercial, las cuales fueron rehidratadas, cultivadas y conservadas en el laboratorio antes de su utilización. Las cepas liofilizadas pasan por el proceso de secado lo que implica un aumento en la expresión de los genes implicados en el catabolismo de los ácidos grasos, la gluconeogénesis y el ciclo del glioxilato; a su vez, el proceso de rehidratación de cepas liofilizadas implica mucho estrés celular (estrés oxidativo, estrés osmótico, células dañadas, etc.) (Jenkins, 2011).

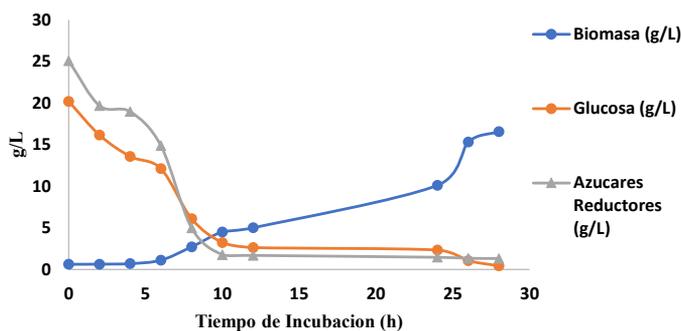


Figura 1. Cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en medio YPD. La línea azul corresponde a la variación de biomasa (peso seco, g/L), la línea naranja corresponde al consumo de glucosa (g/L), y la línea gris corresponde al consumo de azúcares reductores, todas estas en función del tiempo de incubación (h)

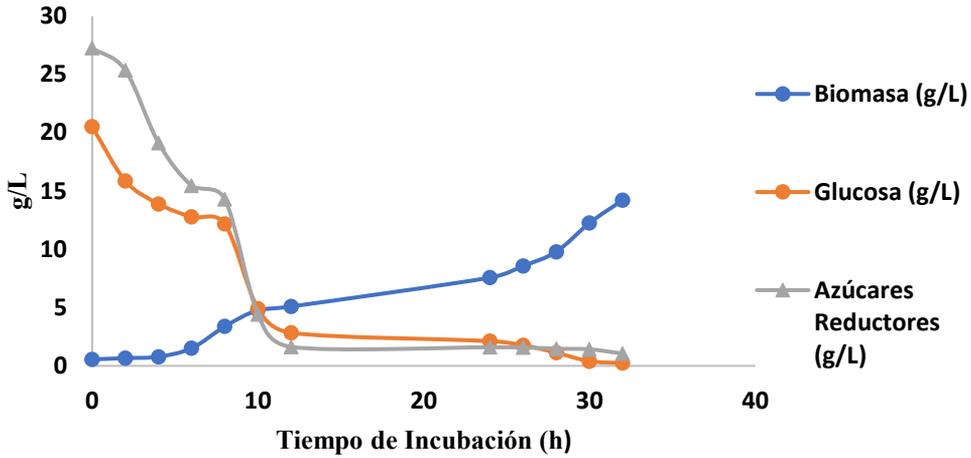


Figura 2. Cultivo de *Saccharomyces pastorianus* en medio YPD. La línea azul corresponde a la variación de biomasa (peso seco, g/L), la línea naranja corresponde al consumo de glucosa (g/L), y la línea gris corresponde al consumo de azúcares reductores, todas estas en función del tiempo de incubación

Los cultivos de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en el medio alternativo con melaza de caña mostraron que el comportamiento de dichas levaduras fue similar. Como se observa en las Figuras 3 y 4 en las primeras horas de los cultivos de ambas cepas el consumo de glucosa fue casi de su totalidad, mientras que la concentración de azúcares reductores tuvo un descenso importante en las primeras 12 h de cultivo para ambas cepas. Fajardo y Sarmiento (2012), describieron que en las primeras 5 h de cultivo de una cepa de *S. cerevisiae* aislada de la naturaleza en el medio con melaza de caña, la glucosa residual aumentó ligeramente debido a la presencia de la enzima invertasa que es la encargada de hidrolizar la sacarosa produciendo glucosa y fructosa que son más simples y por lo tanto asimilables para el microorganismo. En contrapartida, en los cultivos que se realizaron, se observó una disminución constante de los sustratos con el tiempo, esto podría deberse a que las cepas de levaduras utilizadas a nivel industrial al producirse en medios con una concentración mínima de melaza de caña están adaptadas a los azúcares presentes en la melaza, por

lo tanto, los metabolizan de forma más eficiente. Asimismo, continuando con la comparación del crecimiento entre ambas cepas, se observa que en cuanto a los parámetros rendimiento de biomasa en base al sustrato consumido, nivel máximo de biomasa generada y velocidad específica de crecimiento, la cepa de *S. cerevisiae* es más eficiente que la cepa de *S. pastorianus*. Esto podría deberse a las condiciones óptimas de crecimiento de dicha cepa, como ser la temperatura, ya que la cepa de *S. pastorianus* es más sensible a temperaturas elevadas. Por tal motivo, las fermentaciones para la producción de cerveza tipo lager suelen realizarse a temperaturas entre 5 a 10°C. A su vez si comparamos la biomasa con la obtenida por Cardozo y Moreno (2012) quienes obtuvieron un máximo de 7,340 g/L de biomasa y una productividad de 0,7 g/Lh, podemos observar que la biomasa y productividad de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en medio alternativo a base de melaza de caña fue de 12,96g/L y 0,28 g/Lh; y 9,37 g/L y 0,93 g/Lh, respectivamente.

Los factores implicados en el crecimiento celular son tanto el tipo de cepa que como ya vi-

mos tienen metabolismos diferentes; así como la concentración de glucosa y azúcares reductores en los tipos de melazas de caña utilizadas, como es bien sabido la melaza es un subproducto de la industria azucarera, por lo cual la concentración final de los azúcares dependen del proceso de producción, la concentración inicial de azúcares contenidos en la caña de azúcar que a la vez depende del tipo de cultivo, suelo, etc. que varía tanto de industria como de país.

En la Tabla 2 se comparan los parámetros de crecimiento de las cepas de *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* en medio YPD y en el medio a base de melaza de caña. El crecimiento a nivel Erlenmeyer fue más eficiente en el medio YPD, ya que todos parámetros de crecimiento son más elevados

que en el medio alternativo a base de melaza de caña. Esto es debido a que el medio YPD es más rico nutricionalmente por el contenido de extracto de levadura y peptona de carne. Sin embargo, es importante remarcar que el medio tradicional YPD es sumamente costoso (siendo el costo actualizado en dólares de aproximadamente de 180 \$ un frasco de 500 g) justamente lo que hace que la producción de biomasa líquida de levaduras cerveceras en dicho medio sea muy poco rentable a nivel industrial, mientras que la melaza por kg tiene un costo aproximado de 2 \$, esto podría abrir una brecha de aprovechamiento para las industrias cerveceras artesanales que fueron emergiendo en los últimos años a nivel país.

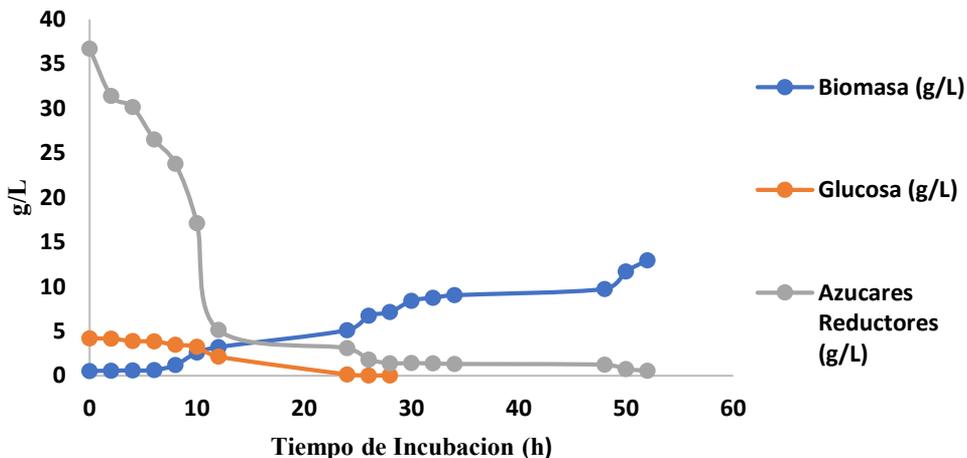


Figura 3. Cultivo de *S. cerevisiae* en medio a base melaza de caña. La línea azul corresponde a la variación de biomasa (peso seco, g/L), la línea naranja corresponde al consumo de glucosa (g/L), y la línea gris corresponde al consumo de azúcares reductores (g/L), en función del tiempo de incubación (h)

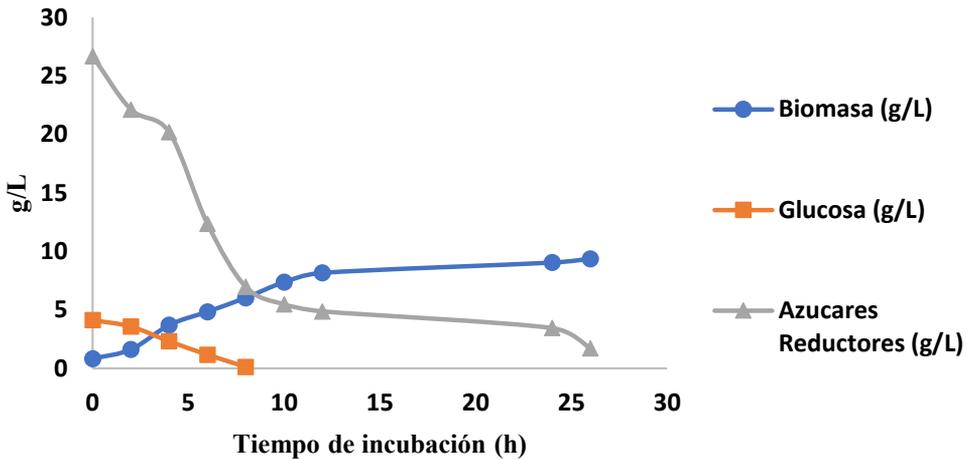


Figura 4. Cultivo de *Saccharomyces pastorianus* en medio de cultivo a base melaza de caña. La línea azul corresponde a la variación de biomasa (peso seco, g/L), la línea naranja corresponde al consumo de glucosa (g/L), y la línea gris corresponde al consumo de azúcares reductores (g/L), todas estas en función del tiempo de incubación (h).

Tabla 2. Comparación de los parámetros cinéticos y estequiométricos de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* en medio YPD y medio de cultivo a base de melaza de caña.

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		<i>Saccharomyces pastorianus</i>	
	Medio YPD	Medio con melaza de caña	Medio YPD	Medio con melaza de caña
Rendimiento de Biomasa en base a glucosa consumida ($Y_{x/s}$, g_x/g_s)	0,81	0,65	0,67	0,62
Rendimiento de Biomasa en base a azúcares reductores consumidos ($Y_{x/s}$, g_x/g_s)	0,67	0,34	0,52	0,34
Velocidad específica máxima de crecimiento (μ_m , h^{-1})	0,35	0,36	0,35	0,12
Nivel Máximo de Biomasa (g/L)	16,57	12,96	14,22	9,37
Productividad volumétrica Máxima (P_{vMax} , g/Lh)	0,64	0,28	0,48	0,93

CONCLUSIONES

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el crecimiento de dos cepas comerciales de interés industrial en un medio económico, en esta etapa se obtuvo biomasa líquida de las le-

vaduras cerveceras *S. cerevisiae* y *S. pastorianus* mediante fermentaciones con el medio de cultivo alternativo a base de melaza de caña en matraces. Cabe remarcar, que para ambas levaduras se consiguieron niveles de biomasa aceptables con el medio alternativo a base de melaza de caña que

con el medio de cultivo tradicional YPD, lo cual podría deberse a factores físicos como la agitación y consecuente distribución del oxígeno y demás nutrientes. Teniendo en cuenta lo mencionado, de igual forma la producción final en medio a base melaza de caña es mucho más económica que el obtenido en medio YPD. Estos resultados permiten indicar que la producción de biomasa líquida de ambas levaduras cerveceras mediante fermentación en medio a base de melaza, resulta ser un proceso biotecnológico factible y rentable. Para futuros trabajos se recomienda escalar el proceso a biorreactor de tanque agitado, realizar conteo de células viables en la biomasa, además de utilizar la biomasa obtenida para inocular mosto cervicero.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT por la financiación de la Maestría. A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción FACEN – UNA por desarrollar la Maestría en Biotecnología Industrial.

CONFLICTO DE INTERESES

El autor declara que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ávila, R., Rivas, B., Hernández, R., Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12:129-135.

Cardozo, M., Moreno, J. (2012). Diseño y optimización de un medio de cultivo a base de melaza de caña para la producción de biomasa a partir de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis de

pregrado Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia, Bogotá. 15-30.

Fajardo, E. y Sarmiento. (2007). Evaluación de la melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis de pregrado Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia, Bogotá. 22-42.

Ferreira, I., Pinho, O., Vieira, E. y Tavarela, J. (2010). Brewers *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. *ELSEVIER*. 11(2): 77-84.

Grande, C. (2016). Valoración biotecnológica de residuos agrícolas y agroindustriales. Cali, Colombia. Editorial Bonaventuriana. 36-42.

Instituto de Salud Pública de Chile. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos.

Jenkins, D. (2011). The impact of dehydration and rehydration on brewing yeast. Tesis PhD. Universidad de Nottingham. 10-30.

Singh, V., Haque, S., Niwas, R., Srivastava, A., Pasupuleti, M. y Tripathi, C. (2017). Strategies for Fermentation Medium Optimization: An In-Depth Review. *Frontiers in Microbiology*. 7:2087.

Valencia, A. y Zapata, C. (2014). Remoción de Calcio y Magnesio de la melaza para el mejoramiento del proceso de Fermentación. Tesis de pregrado Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional de Trujillo. Perú, Trujillo. 2-18.