



FONDO FIDUCIARIO PEREZ-GUERRERO PARA LA COOPERACION TECNICA Y ECONOMICA ENTRE PAISES EN VIAS DE DESARROLLO

PROYECTO DE COOPERACIÓN SUR-SUR



“Descontaminación de residuales de destilería mediante propagación de proteína microbiana (DRD/PPM) ”

INFORME FINAL

Entidad Ejecutora:

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Contrapartes Extranjeras:

Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil
CeBiot, Universidad Politécnica de Nicaragua, Nicaragua

Diciembre, 2016

ÍNDICE

I.	CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO	1
II.	INFORME TÉCNICO	2
II.1.	Resultado 01. Actividades de Dirección del Proyecto	2
II.2.	Resultado 02. Actualización bibliográfica sobre el tema	12
II.3.	Resultado 03. Desarrollo del procedimiento	14
II.4.	Resultado 04. Validación tecnológica	23
II.5.	Resultado 05. Estudios de factibilidad técnico-económica y de mercado	33
II.6.	Relación de Anexos	42
III.	LECCIONES APRENDIDAS	44
IV.	INFORME ADMINISTRATIVO CONTABLE	45
IV.1.	Resumen de la situación financiera	45

I. CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO.

1. Líneas de Acción.

Alimento animal. Seguridad Alimentaria. Medio ambiente y energía para el Desarrollo Económico Sostenible.

2. Entidad local cubana responsable.

Nombre y Dirección: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Vía Blanca No. 804 y Carretera Central. San Miguel del Padrón, CP 11000, La Habana.

Nombre del responsable y sus funciones:
Ing. Gustavo Saura Laria, Coordinador General del Proyecto

3. Objetivo General.

Puesta en marcha de nuevas iniciativas para mejorar la producción simultánea de la biomasa microbiana proteica para la alimentación animal y desarrollar medidas para mitigación y adaptación al cambio climático.

4. Objetivo Específico

Este proyecto se propone como objetivo la obtención de datos básicos en el proceso de descontaminación de los residuales de destilerías etanol y su aprovechamiento para la obtención de biomasa como alimento forrajero. Se ensayarán alternativas para disminuir los costos y/o aumentar la eficiencia del proceso de producción de levadura *Torula*. También se evaluará este alimento animal para la ganadería incorporado en diferentes dietas para varias especies de animales.

5.	Presupuesto inicial	32,000.00 USD
	Presupuesto ejecutado (cierre 22/11/2016)	25,840.80 USD

6. Temporalización

Fecha de inicio de proyecto: Junio 2014

Fecha de finalización de proyecto: Diciembre 2016

II. INFORME TECNICO

Avance del Proyecto

II.1. Resultado 01. Actividades de Dirección del Proyecto:

Reunión de apertura del Proyecto.

El Cronograma de Actividades oficiales del Proyecto, así como la metodología de trabajo finalmente colegiada y aprobada entre los integrantes del consorcio (Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar/ICIDCA, Cuba; Universidad Federal de Minas Gerais/UFMG, Brasil y el CeBiot (Programa PIENSA), Universidad Politécnica de Nicaragua, fue enviada por el Director del Proyecto Ing. Gustavo Saura del ICIDCA, a todos los participantes involucrados. El seguimiento de dicho Programa, así como la entrega de la documentación trimestral técnica fue discutida en cuanto a las estrategias de implementación y salidas vía correo electrónico.

Actividades de intercambio de especialistas para la diseminación de resultados

Aprovechando los fondos disponibles para acciones de movilidad, el Proyecto empleó algunas estrategias para expandir, potenciar y generalizar los resultados del Proyecto con instituciones científico-académicas, así como empresarios industriales de países de la región latinoamericana y del Caribe no integrantes del consorcio Cuba, Brasil y Nicaragua, dentro del marco de la cooperación Sur-Sur. Otra modalidad fue diseminar los resultados del Proyecto en otras instituciones académicas que aunque no formaban parte del consorcio, si se ubican en países de la colaboración triangular. En este último caso se escogió Brasil por su característica de país continental y por la vasta tradición y experiencia en la industria sucro-alcoholera.

En este caso se escogió como país fuera de la colaboración tripartita a México y el objetivo de esta actividad fue el de difundir los resultados obtenidos en el Proyecto, exponiendo algunas de las deducciones obtenidas en cuanto a la

validación de esta tecnología por ICIDCA, así como la experiencia de investigación lograda por la Universidad de Minas Gerais y el CeBiot de Nicaragua dentro de las acciones comprometidas. De igual forma la acción tuvo la intención de explorar las posibilidades de poder coordinar con la Universidad Autónoma de México-Unidad Ixtapalapa (UAMI) y la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) perteneciente al Instituto Politécnico Nacional (IPN) (México, D.F) actividades de investigación relacionadas con la evaluación de la calidad nutricional de cremas de levadura *Torula* y optimización de algunos parámetros operacionales que conduzcan a reducir algunos costos.

A través de los fondos del Proyecto pudieron ejecutarse visitas oficiales a la UAMI y a la ENCB en Ciudad México. Los especialistas cubanos participaron en intercambios técnicos con investigadores-profesores y estudiantes de ambas instituciones académicas. En la UAMI se logró brindar una asesoría y plan de capacitación a profesores-especialistas que atienden cursos de Post-graduación en Ingeniería de Reacciones de Fermentación, Programa que prevé la capacitación durante el año lectivo de más de 20 estudiantes graduados de especialidades afines con los procesos fermentativos.

Se transmitió la experiencia cubana en la tecnología de obtención de proteína microbiana utilizando residuales de destilerías, el cual constituye un caso de estudio típico de conversión biológica o revalorización de residuales por medio de un proceso de respiración aerobio en sistema de cultivo continuo empleando un microorganismo GRAS: *Candida utilis* (Generalmente Reconocido como Seguro). Ambos esquemas de fermentación resultan clásicos y la posibilidad de mostrar como en Cuba se han podido llevar a la práctica hasta nivel industrial estas biotecnologías, resulta siempre un referente para cualquier actividad docente relacionada con la formación de estudiantes de carreras como Ingeniería Química, Alimentos, Microbiología, Ingeniería Ambiental, entre otras asociadas.

Con esta institución se conversaron los intereses en el establecimiento de líneas de interés común en el campo de las biotecnologías dirigidas al mejoramiento

medio-ambiental, tratamiento de residuales de la producción de alcohol y bebidas como tequila, así como el análisis de sistemas productivos integrados.

Sobre las visitas a la ENCB se participó en dos Seminarios Departamentales correspondientes al Programa de Doctorado de Tecnología en Alimentos del IPN, donde los especialistas cubanos participaron en un intercambio de ideas y sugerencias con los doctorantes y profesores, exponiendo algunas de las experiencias de la tecnología cubana de producción de levadura *Torula*, así como resultados netamente académicos que constituyeron la base de este diseño tecnológico (experiencias en Planta Piloto, estudios sobre digestibilidad aparente e “in vitro”, evaluación de la reproducción en animales mono-gástricos, entre otros aspectos relacionados con la inocuidad alimentaria).

En esta institución científica se coordinaron futuras acciones de formación de recursos humanos, en este caso tutoría de Tesis de Maestría en Tecnología de Alimentos de estudiante mexicana, sobre la base de la experiencia adquirida a través del Proyecto y apertura de futuras líneas de trabajo que versen sobre la evaluación de cepas de levadura *Torula* y *Saccharomyces* de Destilerías cubanas en cuanto a sus características prebióticas y probióticas para alimento animal en formulados simples o mixtos para ambas especies, aprovechando el enorme potencial que pueden tener sub-productos de la industria sucro-alcoholera de bajo nivel agregado (Ej. Vinazas de destilería).

Se participó en un Encuentro Bilateral entre especialistas del ICIDCA y los profesores doctores del Programa de Doctorado de Tecnología en Alimentos del IPN donde se abordó la posibilidad de ejecución de acciones de colaboración científica entre ambas instituciones que puedan dar continuidad a la profundización en cuanto a la caracterización de cremas de levadura (*Torula* y *Saccharomyces*) a través de técnicas novedosas y no destructivas.

Estas visitas a instituciones académicas mexicanas permitieron la adquisición de importantes donaciones de literatura técnica de cuya autoría forman parte muchos de estos profesores mexicanos. La información contenida en estos libros resulta de obligado material de consulta y contribuirán a la formación docente de cualquier

estudiante o especialista de nuestro país vinculado a la temática de la producción de alimentos. Se relacionan a continuación:

- Advances in Heat Transfer Unit Operations. Baking and Freezing in Bread Making. Edit. G. Calderón; G. Gutiérrez; K. Niranjana. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Ratón-Londres-Nueva York. 2017.
- Food Nanoscience and Nanotechnology. Edit. H. Hernández; G. Gutiérrez. Springer Science + Business Media, Nueva York. 2015.
- Food Engineering. Integrated Approaches. Edit. G. Gutiérrez; G. Barbosa; J. Welti, E. Parada. Springer Science + Business Media, LLC. 2008.
- Tecnología Ambiental: Ciencias Aplicadas. Edit. J. Morales; J. Mendoza. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Universidad del Papalopán, México, DF. 2012.
- Microbiología de los alimentos. Edit. I. Guerrero, B.E. García, M. C. Wachter y C. Regalado. LIMUSA, Noriega Editores, México, DF. 2014.
- Ciencia y Tecnología de Carnes. Edit. Y. H. Hui, I. Guerrero, M. Rosmini. LIMUSA, Noriega Editores, México, DF. 2006.



Encuentro Bilateral ICIDCA-ENCB

De izquierda a derecha bajo: Ing. J. Martínez-Valdivieso (ICIDCA), M.Sc. R. García (ICIDCA), Dr. G. Gutiérrez (ENCB), Dra. L. Dorantes (ENCB), Dra. G. Calderón. Al fondo: Dr. J. Chanona (ENCB), Dr. H. Hernández (ENCB) y otras profesoras integrantes del Programa de Doctorado.

En ambas instituciones académicas mexicanas se abordó también la importancia y el interés de firmar Convenios Marcos de Colaboración Científica, el cual pudo llevarse a término con la UAMI (**Anexo 1**) y se sentaron las bases para la firma con la ENCB/IPN. Ambos Convenios deben amparar de forma legal acciones de colaboración en líneas de investigación de interés y provecho mutuo, incluyendo la formación de recursos humanos (maestrías y doctorados), así como el intercambio de especialistas entre las instituciones para brindar asesorías, conferencias, clases magistrales y otras modalidades docentes.

Por otra parte las visitas realizadas durante el año 2016 al Grupo ZUKER de México resultaron provechosas en el sentido de que este Grupo mexicano ha sido el proveedor de numerosos insumos necesarios para ejecutar los experimentos a nivel de Planta Piloto y a escala industrial de aprovechamiento de las vinazas de destilerías como única fuente de Carbono y energía. Insumos tales como nutriente de levadura en sustitución de mieles finales, sales nutrientes, antiespumantes, entre otros han sido cruciales para la ejecución de numerosas actividades de este proyecto y para el desarrollo de la Tarea Técnica y validación de la tecnología.

En reuniones desarrolladas con este Grupo se evaluaron otras opciones y variantes de estas materias primas dirigidas a mejorar la productividad y perfeccionar el diseño tecnológico actual, así como la posibilidad de poder utilizar sus instalaciones industriales para la introducción de resultados científicos obtenidos a través de acciones conjuntas entre instituciones mexicanas y cubanas (implementación de tecnología de tratamiento de residuales en la industria alcoholera mexicana, estrategias de trabajo de formulaciones de nutrientes para plantas de levadura *Torula* y destilerías de alcohol). De igual forma esta empresa está interesada en financiar y patrocinar un Programa de Capacitación para la industria azucarera mexicana, verticalizando en temas como tratamiento de residuales y producción de alcohol. En este sentido existe un gran interés en que el Programa pueda estar apoyado académica y científicamente de forma conjunta por UAM-I y ENCB por México e ICIDCA por Cuba.



Reunión entre especialistas, empresarios y funcionarios Estado de Jalisco y Cuba. De izq. a derecha E. Cardona (Presidente ZUKER), M. Hernández (Esp. Relac. Int. ICIDCA), R. Varela (Director CENCA, Cuba), M. Cardona (J' Negocios ZUKER), G. Saura (Jefe Proyecto FPPG), funcionarios del Gobierno de Jalisco.

Con respecto a las actividades de diseminación en otras instituciones académicas brasileñas, se escogió a la Universidad Federal de Pernambuco. Esta universidad brasileña se ubica en la región del nordeste brasileño, territorio que se ha caracterizado por ser uno de los más desfavorecidos en este país en cuanto a su desarrollo, pero que sin embargo posee una tradición en la industria azucarera y en los últimos años muchos grupos de esta Universidad han intentado aplicar los resultados científico-técnicos para el impulso económico y social de esta región. La acción en sí consistió en la participación de una especialista del ICIDCA en impartir una conferencia en Seminario Docente del Núcleo de Ingeniería Metabólica de la Facultad de Ingeniería Bioquímica durante el mes de septiembre del 2016 ante todos los estudiantes brasileños insertados en el Laboratorio de Genética. La especialista expuso en su disertación la experiencia de la tecnología cubana de producción de levadura forrajera *C. utilis* para reducir la carga contaminante en destilerías de alcohol como estrategia medioambiental y para la producción de núcleo proteico para la alimentación animal, resultados fruto de este Proyecto.



Visita al Ingenio S. J. del Tule, Colima. Foto Superior: Ing. L. Peñalver (J' Producción), R. Varela (Director CENCA), E. Cardona (Presidente ZUKER), M. Hernández (Esp. Rel. Intern. ICIDCA), Ing. G. Saura (Jefe Proyecto FPPG), A. Alfonso (Téc. y Admin. Proy. FPPG), entre otros tecnólogos del CA.

Reunión de cierre del Proyecto en La Habana



Como actividad de cierre del Proyecto, el día martes 22 de noviembre del 2016 se celebró en La Habana la Reunión Final en el Salón Carpentier del Hotel Memories Miramar sito en 5^{ta} Avenida y Calle 70, Miramar, La Habana, Cuba. El encuentro estuvo presidido por los coordinadores por parte de cada consorcio Ing. Gustavo Saura (Coordinador General ICIDCA, Cuba), Dr. Walter Motta (Coordinador Universidad Federal Minas Gerais, Brasil) y Dr. Leandro Páramo (Coordinador CeBiot, Nicaragua). La reunión tuvo como objetivo analizar los resultados y avances logrados, identificar las lecciones aprendidas en el marco de la colaboración e identificar próximas acciones.

En la sesión de la mañana, las palabras de apertura estuvieron a cargo del Ing. Arodis Caballero Núñez Director del ICIDCA, luego los Coordinadores de los Grupos de investigación que formaron parte del Consorcio, expusieron los principales resultados logrados dentro del marco de las acciones coordinadas, así como la interrelación de esta línea de trabajo con temáticas de investigación de sus respectivas instituciones.

El Dr. Gustavo Saura, Coordinador General, integrante del ICIDCA expuso en su presentación (**Anexo 2**) los resultados más relevantes obtenidos a escala de laboratorio en cuanto a la obtención de parámetros cinéticos del crecimiento de *Candida utilis* en diversas formulaciones de medios de cultivo basados con vinazas de destilería y con otras fuentes suplementarias de macro, microelementos y sustancias probióticas como mieles finales, nutriente de levadura, sales nitrogenadas, entre otras. El Ing. expuso como estos resultados a nivel de banco fue posible escalarlos a nivel de Microplanta, Planta Piloto y hasta nivel industrial, culminándose la Tarea Técnica requerida para estos fines.

Por su parte del Dr. Walter Motta Coordinador por la Universidad Federal de Minas Gerais (UFMG) mostró los experimentos realizados con un lote industrial de levadura seca inactivada *Torula* a partir de vinazas, procedente de la fábrica cubana “A. Sánchez” de la provincia Cienfuegos (**Anexo 3**). Se confirmó como hasta niveles de inclusión de hasta un 15-20 % de este núcleo proteico en experimentos realizados en animales monogástricos (conejos y una variedad de jutias endémicas del Brasil), resultaron promisorios en cuanto a la ganancia de indicadores por los animales, digestibilidad *in vitro* e *in vivo* y la factibilidad económica de combinar este ingrediente en dietas que combinen otras fuentes de energía y proteína de bajo valor agregado derivadas de la industria sucro-alcoholera como las vinazas.

El Dr. Leandro Páramo, expuso algunas experiencias preliminares obtenidas por el CeBiot en Nicaragua a través del Programa de Investigación, Estudios Nacionales y Servicios Ambientales (PIENSA) sobre la selección de algunas cepas de esta especie, evaluación de parámetros cinéticos en formulaciones con derivados de la

caña de azúcar, así como estudios comparativos que mostraron la versatilidad y potencial de esta especie de levadura para degradar otros residuales de la industria alimenticia de alta carga orgánica como el suero de leche y revalorizarlos en proteína microbiana de alta calidad y necesaria para la sustitución parcial o completa de la soya y el maíz en animales **(Anexo 4)**.



En la sesión de la tarde se propició un debate entre funcionarios del PNUD-Habana, funcionarios del Grupo Empresarial AZCUBA, técnicos del consorcio, directivos del ICIDCA, así como especialistas invitados de otras instituciones cubanas e internacionales (Instituto de Ciencia Animal/ICA, Cuba; Universidad de Cohauila, México) relacionado con las posibilidades de fomentar este tipo de proyectos en nuestra región, las fortalezas y debilidades que en muchas ocasiones deben afrontarse y la importancia de implementar un plan de acción contra riesgos de forma que el cronograma de trabajo no se vea afectado. Fueron debatidas las posibilidades de establecer nuevos vínculos de trabajo y colaboración científica dentro de las líneas estratégicas de las Naciones Unidas.



Reunión Final Proyecto (22 /11/2016, Hotel Memories Miramar, La Habana, Cuba). Presentación del Coordinador General Ing. G. Saura. Aparecen también el Dr. L. Páramo (CeBiot, Nicaragua), Lic. L. Díaz (PNUD-Habana), A. Alfonso (Admist. Proyecto ICIDCA), Dr. M. Díaz de los Ríos (Director Derivados ICIDCA), Dr. J. Lezcano (ICA, Cuba), M.Sc. R. García (ICIDCA), Dr. W. Motta (UFMG, Brasil), entre otros especialistas y funcionarios invitados.



Reunión Final Proyecto (22 /11/2016, Hotel Memories Miramar, La Habana, Cuba). Presentación del Coordinador por CeBiot/PIENSA, Nicaragua Dr. L. Páramo. Aparecen también Téc. M. Peña (ICIDCA), M.Sc. A. Guevara (ICIDCA), M.Sc. M. Gallardo (Direct. Económica ICIDCA), Ing. L. Barrios (Espec. Relac. Int. G.E. AZCUBA), Ing. A. Caballero (Direct. General ICIDCA), Téc. A. Alfonso (Adminst. Proyecto ICIDCA), Dr. A. Iliná (Invit. Univ. Coahuila, México), Dr. G. Michelena (ICIDCA), Dr. W. Motta (UFMG, Brasil).

El **Anexo 5** compila de forma relatoría esta actividad de Dirección planificada para el cierre del Proyecto.

II.2. Resultado 02. Actualización bibliográfica sobre el tema

Antecedentes del Proyecto. Revisión bibliográfica

Los países tropicales como Cuba y Nicaragua no son eficientes productores de soya y maíz, hecho que constituye un reto para lograr su independencia alimentaria. Brasil, uno de los países que forman el consorcio de este Proyecto, es gran productor de estas fuentes de proteína y energía vegetales, sin embargo posee muchos pequeños productores, los cuales han tenido que desaparecer del mercado debido a los altos costos que tienen estos cultivos, esta situación también la enfrentan países del área, afectándose la producción de aves, cerdos, entre otros renglones ganaderos.

Los tres países son de tradición sucro-alcoholera en la región y actualmente deben conciliar las regulaciones ambientales que normalizan el vertimiento de residuales, a través de soluciones sustentables que en muchas ocasiones demandan de la aplicación del conocimiento científico generado.

La vinaza formada a partir de la producción de etanol es un residual polutante pero que puede ser aprovechado en la nutrición animal, no solo como fuente de carbono y energía para la propagación de proteína microbiana aportada por la especie forrajera *Candida utilis*, sino también porque su propia composición contiene levadura *Saccharomyces* reproducida durante la producción de alcohol en aproximadamente 404 mg.L^{-1} por lo que este residual *per se* puede considerarse un ingrediente proteico, en sustitución a fuentes de proteína vegetales que cada vez más aumentan de precio.

A inicios del Proceso Revolucionario en Cuba, la práctica de uso de levaduras en la alimentación animal se reducía a la procedente de los procesos de producción de etanol. En 1965, comienza a producir la primera planta de levadura *Candida utilis* (Torula) para la alimentación animal y a partir de 1974 se inicia un proceso inversionista para la construcción y puesta en marcha de 10 plantas de levadura

forrajera a partir de mieles finales de caña de azúcar, con asesoría técnica del ICIDCA **[Man02]**.

La levadura *Candida utilis*, es uno de los microorganismos más utilizado industrialmente en la producción de proteína unicelular forrajera. Su ventaja fundamental con respecto a otros tipos de proteínas, es que se trata de un producto establecido con buena aceptabilidad por los consumidores como suplemento proteico. **[Man02]**.

El sustrato tradicionalmente utilizado en Cuba para la producción de levadura forrajera, ha sido la miel final de caña, que resulta un medio idóneo, ya que no solo aporta la fuente de carbono y energía, sino prebióticos, vitaminas y factores de crecimiento **[Alm72]**. Sin embargo se ha planteado que debido a su naturaleza puede afectar el rendimiento y calidad del proceso de propagación de acuerdo al contenido de impurezas en forma coloidal y de suspensión, ácidos orgánicos volátiles y presencia de una flora microbiana elevada **[Bia82]**.

Por otra parte el empleo de este sustrato para la producción de levadura presenta problemas de índole económico y de disponibilidad, pudiéndose citar entre los primeros los siguientes:

1. Gran peso en el costo de producción, que puede ser de 50 a 70%, dependiendo de su precio en el mercado mundial **[Min85]**.
2. Prioridad de intereses para su exportación **[Lic84]** y producción de etanol.
3. Desbalance de la demanda interna, que provocan la transportación de grandes cantidades de unas zonas a otras **[Com83]**.
4. No competitividad con los precios actuales de la soya.

La vinaza generada de las columnas de destilación en fábricas de alcohol es una corriente multi-componente compleja, sujeta a constante vigilancia por parte de autoridades medio-ambientales. Por ser un efluente compuesto por una mezcla de diversos nutrientes orgánicos e inorgánicos, puede constituir un excelente sustrato para la obtención de proteína unicelular (e.g. *Candida utilis*) y producción de metabolitos. El empleo de este residual en la producción de levadura *Torula* puede

estar enfocado desde dos puntos de vista: por un lado, la sustitución de las mieles disminuiría los costos de producción y por otro se lograría una reducción del impacto medio ambiental por el vertimiento de las vinazas [Sau00].

1. [Man02] Manual de los derivados de la caña de azúcar, Tercera Edición, La Habana, 2002.
2. [Alm72] Almazán, O. y Sáez, A. "Sobre los derivados". Ed. ICIDCA, 1972.
3. [Bia82] Biart, J y otros. "Estudio de las mieles finales de la caña de azúcar". Monografía, Editorial Científico Técnica, La Habana, 1982.
4. [Min85] MINCEX. Boletín de Información Económica Cuba-Azúcar, Empresa Cuba-Azúcar, La Habana, 1985.
5. [Lic84] Licht's, F. O. "Internal molasses Report", 21 (12/13), p. 127, 1984.
6. [Com83] Comisión de alcohol y derivados de la ACC. La Habana, p. 44, 1983.
7. [Sau00] Saura, G. y otros. VI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados. La Habana, junio 13-16, 2000.
8. [Oba04] Obaya, C. y otros. "Desarrollo de una tecnología de tratamiento de las aguas residuales de las destilerías de alcohol". Informe Interno, ICIDCA, 2004.

II.3. Resultado 03. Desarrollo del procedimiento

Crecimiento microbiano a escala de laboratorio. Cinética de crecimiento en diferentes componentes de las vinazas como única fuente de Carbono y energía (etanol, glicerol, ácido acético, glucosa residual, etc.)

La composición nutricional de las vinazas (C, N, P, etc.) pudo cuantificarse directamente y/o inferirse a través de análisis como la Demanda Química de Oxígeno (DQO), Nitrógeno Total Kjeldhal, Fósforo Total como P_2O_5 , contenido de cationes, etc. Su composición resultó en extremo variable y estuvo determinada por el esquema fermentativo que las originó, pudiendo encontrarse valores atípicos extremos en el caso de las vinazas derivadas de producciones de aguardientes o *caçhazas* artesanales (e.g. elevados valores de DQO, nitrógeno,

conductividad, sólidos totales, sólidos disueltos totales, sólidos disueltos fijos y sólidos disueltos volátiles).

Las vinazas mostraron una naturaleza ácida con un valor que fluctuó de 3,9 a 5,1. En ellas se cuantificaron azúcares remanentes (sacarosa, glucosa y fructosa) y compuestos orgánicos de bajo peso molecular como etanol no destilado, glicerol y ácidos carboxílicos débiles, los cuales tributaron a una carga orgánica que fluctuó entre los 35.600,0 a los 68.000,0 mg.L⁻¹ de DQO. Algunos ácidos volátiles tales como el acético, propiónico, butírico y valérico pudieron encontrarse en este efluente, formando parte de la fracción de sólidos disueltos volátiles (36.200,0 – 41.815,0 SDV mg.L⁻¹), pudiendo provenir de la propia miel, que los contiene en concentraciones pequeñas y variables o generados durante infecciones bacterianas en la fermentación alcohólica.

El incremento en la concentración de estos ácidos orgánicos fue detectado en vinazas generadas de fermentaciones con mieles atípicas y las obtenidas a partir de fermentaciones para aguardientes y *caçhazas*. Algunas de estas caracterizaciones fueron divulgadas por García *et al* en el 2014 (**Anexo 6**) reportando como en vinazas generadas a partir de fermentaciones con jugos de filtros de cachaza, proclive a infecciones bacterianas, los valores de ácido acético llegaron a alcanzar 7.5 g.L⁻¹. Este valor estuvo por encima de la concentración encontrada para fructosa y glicerol que son sustratos carbonados mayoritarios en estos efluentes.

La levadura *C. utilis* puede metabolizar azúcares y alcoholes como el etanol y glicerol, así como el ácido acético y el láctico generados durante la fermentación alcohólica; de hecho la asimilación de glicerol y ácido láctico constituyen características fenotípicas con criterio taxonómico para esta especie.

La Tabla 1 muestra la composición promedio de vinazas cubanas colectadas en las destilerías “A. Guiteras” y “A. Colina”, tributarias ambas a fábricas de levadura anexas que históricamente han trabajado con mieles finales de caña de azúcar.

Llamó la atención que el componente de mayor incidencia en la composición de las vinazas fue el glicerol, que es producto de desviaciones del metabolismo en la fermentación alcohólica, especialmente a valores de pH cercanos a la neutralidad o ligeramente básicos. El crecimiento de *C. utilis* NRRL Y-660 en glicerol y etanol como única fuente de carbono, rindió valores muy similares para ambos sustratos en cuanto a los parámetros cinéticos y de comportamiento fisiológico, tal como puede apreciarse en la Tabla 2.

Tabla 1 Composición promedio de las vinazas cubanas

Indicador	
Materia seca gravimétrica, %	7.0 ± 1.1
DQO, mg.mL ⁻¹	60 ± 15
pH	4.6 ± 0.5
Acidez total, %	0.56 ± 0.08
Acidez volátil, %	0.20 ± 0.06
ART, %	1.64 ± 0.97
ARL, %	1.34 ± 0.62
ARInf, %	0.8 ± 0.03
Etanol, %	0.25 ± 0.05
Glicerol, %	19 ± 1.12
N ₂ , %	0.07 ± 0.01
Cenizas, %	1.3 ± 0.04

Tabla 2. Comportamiento cinético de *C. utilis* NRRL Y-660 propagada sobre etanol y glicerol en un medio de crecimiento mínimo.

Fuente de carbono	μ_{max} , h ⁻¹	Y _{x/s}
Etanol	0.338	0.641
Glicerol	0.330	0.627

Estos resultados permitieron extraer una conclusión importante, y es que en las propagaciones de levadura en medios de vinazas, no se detectó crecimiento diáuxicoⁱ como era de esperar a partir de un sustrato tan heterogéneo. La

explicación descansa en el hecho de que tanto el glicerol como el etanol conducen a tasas específicas de crecimiento ($\mu_{m\acute{a}x}$) y rendimientos ($Y_{x/s}$) similares a los que se obtienen con glucosa.

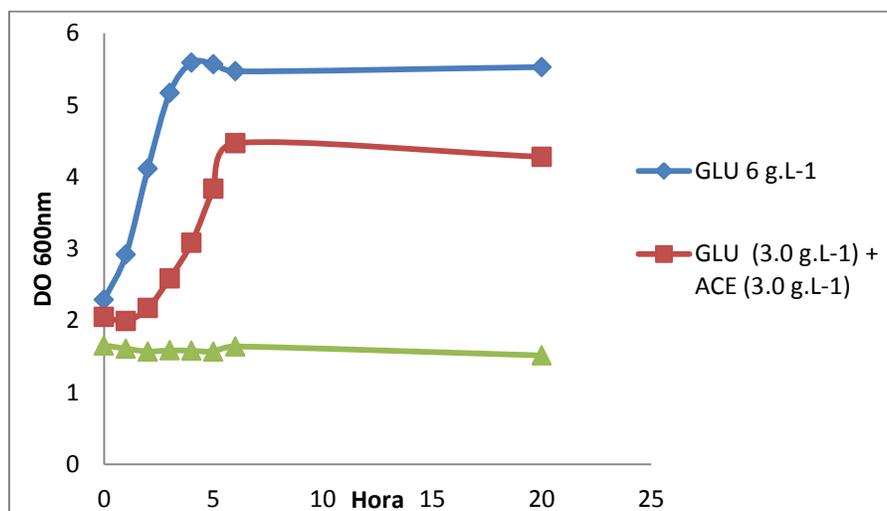


Figura 1. Curvas de crecimiento de *C. utilis* NRRL Y-660 en medios formulados con glucosa y/o ácido acético como únicas fuentes de C y energía. GLU (glucosa), GLU + ACE (glucosa + ácido acético), ACE (ácido acético). Se exhiben los valores promedios de 2 réplicas.

Para otro bloque experimental la Figura 1 muestra las curvas de crecimiento de la cepa *C. utilis* NRRL Y-660 en medio basal YNB sin aminoácidos suplementados con glucosa, ácido acético, y una mezcla de ambas fuentes carbonadas en una composición de 3.0 g.L⁻¹ para un aporte equimolar de carbono para ambas fuentes. La cepa solo logró multiplicarse de forma bifásica o simultánea en presencia de ácido acético cuando este fue suplementado de forma mixta con glucosa, no apreciándose el crecimiento diáuxico típico al ensayar fuentes carbonadas alternativas junto con fuentes represoras como la glucosa.

La $\mu_{m\acute{a}x}$ y fase *lag* difirieron para esta cepa en un medio con ácido acético como única fuente carbonada a cuando lo hizo en presencia también de glucosa. Aunque la biomasa neta y rendimientos máxicos no mostraron diferencias significativas al suplementar de forma combinada el ácido acético, estos

resultados contrastaron con los obtenidos con esta cepa en presencia de otros compuestos mayoritarios en vinazas cubanas como el glicerol y el etanol como únicas fuentes carbonadas que condujeron a tasas específicas de crecimiento y rendimientos máxicos similares a los obtenidos con glucosa.

.....

Estudios en la composición de la biomasa

La levadura es considerada como un forraje valioso por su alto contenido proteico y en ella la razón proteína/carbohidratos es mayor que en otros forrajes vegetales. Su alto contenido de lisina la hace ideal como suplemento de proteínas vegetales pobres en este aminoácido esencial.



Figura 2. Apariencia de la levadura seca inactiva obtenida industrialmente a partir de vinazas de destilería.

En la Figura 2 y Tabla 3 aparecen la apariencia, así como características físicas y composición química de la levadura forrajera obtenida industrialmente a partir de vinazas de destilerías como única fuente de Carbono y energía.

La Tabla 4 destaca como la levadura, tanto de vinazas como de melazas, poseyó un perfil de aminoácidos muy similar al de la harina de soya. Sin embargo el contenido de lisina fue 40% superior al de esta última.

Tabla 3. Características físicas y composición química de la levadura forrajera obtenida industrialmente a partir de vinazas de destilería

Parámetros	Características y composición
Apariencia	Polvo de color amarillo brillante o pardo claro
Densidad	450 kg/m ³
Estabilidad	Buena en almacenamiento seco. Se daña rápidamente con la humedad, contaminándose con hongos y bacterias
Humedad (%)	6-8
Proteína bruta (%)	45 - 50
Ceniza (%)	7 - 10
Fósforo (P₂O₅) (%)	3 - 4,4
Grasas y lipoides (%)	1 - 15
Carbohidratos totales (%)	20 - 30

Tabla 4 Contenido de aminoácidos esenciales de la biomasa de levadura a partir de vinazas y su comparación con la levadura de melazas y la harina de soja

Aminoácidos	Levadura de vinazas (%)	Levadura de melazas de caña (%)	Harina de soja (%)
Arginina	2.04	1.98	3.45
Histidina	1.71	1.89	1.41
Isoleucina	1.95	2.00	1.98
Leucina	3.90	4.06	3.29
Lisina	4.07	4.05	2.90
Metionina + cistina	1.08	0.99	1.15
Fenilalanina + tirosina	3.24	3.89	3.63
Treonina	2.19	2.13	1.71
Triptófano	1.07	1.12	0.90
Valina	2.29	2.17	2.15

La levadura de vinazas no difirió de su homóloga de melazas en cuanto a su composición. Solo el contenido de cenizas resultó superior a la de esta última como consecuencia del mayor contenido de minerales del sustrato principal, sin

embargo la levadura es capaz de incorporar elementos presentes en el medio en grandes cantidades aun cuando no los precise para su metabolismo. Esta situación condujo a prever una nueva etapa de lavado al proceso para reducir los niveles de minerales y su eventual impacto en la salud animal (síndrome diarreico, etc.).

Estudio de diferentes mezclas de vinazas: melazas de caña. (Parámetros de crecimiento)

Partiendo de las deducciones referentes a la problemática del empleo de la miel final de caña de azúcar para esta producción, debido a factores de índole económico, de disponibilidad, así como alteraciones en su calidad química, física y microbiológica, se decidió en esta etapa evaluar a través de parámetros cinéticos del crecimiento de la cepa *C. utilis* NRRL Y-660 el efecto de las mezclas miel y vinazas.

Fueron evaluadas como fuentes de Carbono y energía relaciones vinazas: miel en diferentes proporciones (90:10, 85:15, 80:20 y 70:30 expresado como aporte de DQO). Los experimentos fueron corridos tanto en *batch* (para la determinación de parámetros cinéticos) como en continuo a 0.33 h^{-1} , pH 4.5 y temperatura 35°C .

En la Tabla 5 se refieren los principales parámetros cinéticos evaluados para 3 de las combinaciones ensayadas, observándose que tanto la $\mu_{m\acute{a}x}$ como $Y_{x/s}$ se incrementaron en la medida que aumentaba la proporción de melaza en la mezcla. Desde el punto de vista ecológico, sin embargo, proporciones menores de melazas contribuyeron a una mayor degradación de la materia orgánica.

La selección de la combinación o mezcla adecuada para la propagación de la levadura siempre estará comprometida por las características de las vinazas, así como por la composición de las mieles finales como fuente de prebióticos.

Tabla 5. Comportamiento cinético de la levadura *C. utilis* NRRL Y-660 en diferentes mezclas vinazas-melazas

Vinaza:melaza (% de aporte DQO)	$\mu_{\text{máx}}, \text{h}^{-1}$	$Y_{x/s}$	Reducción de DQO, %
70:30	0.429	0.382	38.910
80:20	0.391	0.323	39.97
85:15	0.338	0.325	41.90

Análisis de estimuladores del crecimiento microbiano como posibles sustitutos de las mieles

La especie *C. utilis* puede metabolizar varios de los componentes presentes en las vinazas como: etanol residual, glicerol y el resto de los azúcares no consumidos en la producción de etanol, sin que le afecte significativamente la concentración de ácidos orgánicos presentes en las mismas con gran poder de adaptación a los cambios de las condiciones de crecimiento y multiplicación. A pesar de esta versatilidad, el cultivo necesita de sales nutrientes y aditivos de bajo costo aportadores de N, P, S, así como de sustancias estimuladoras del crecimiento aportadoras de vitaminas entre otros factores.

Algunos indicadores de importancia industrial, fueron variados al sustituir de forma parcial o total el sulfato de amonio (de elevado precio en el mercado actual) por la urea, fuente nitrogenada de bajo costo y de mayor disponibilidad para el mercado nacional. El diseño del medio concibió como estimulador de crecimiento una combinación vinaza: meladura de 70:30, ajustando una DQO final para 50 g L⁻¹ por su contenido en biotina, sustancia reportada para la actividad enzimática de degradación de la urea (urea-amidoliasa Dur1,2p) por esta especie. Los resultados divulgados por García *et al* en el 2014 (**Anexo 6**) favorecieron el empleo de la fuente orgánica nitrogenada en función del incremento de la biomasa.

Por su parte la Figura 3 muestra las curvas que describen el crecimiento de la cepa bajo estudio al sustituir de forma total la miel final por el nutriente de levadura

QZ-350, (Quimizuk, La Habana) a diferentes concentraciones con respecto a la variante de mezcla vinaza: miel 80:20. El aporte de sustancias prebióticas de la melaza pudo ser sustituido por la adición en promotores de crecimiento microbiano como el ensayado. A escala de laboratorio y Micro-Planta se evidenció que no existían diferencias significativas entre concentraciones de 0.03 y 0.01 mg.mL⁻¹ de nutriente, alcanzándose una estabilidad excelente en el cultivo continuo, por lo que se propuso la concentración inferior para un escalado a nivel de Planta Piloto e industrial.

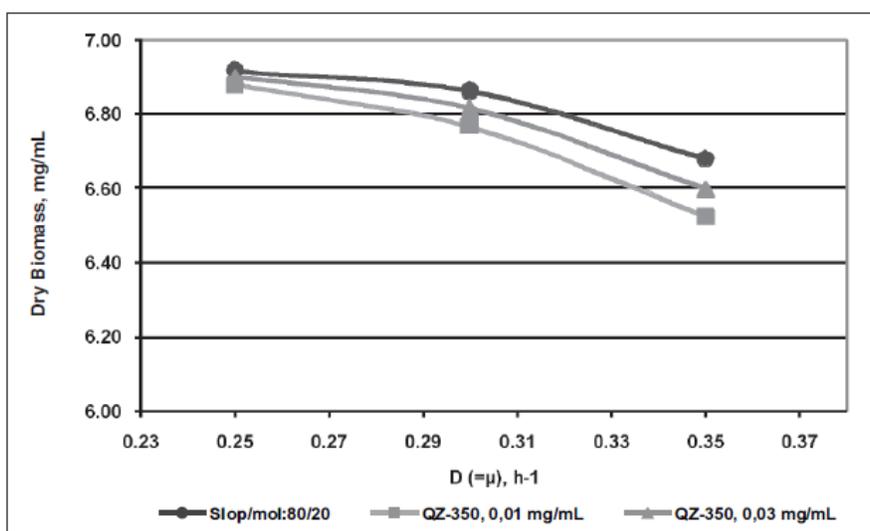


Figura 3. Propagación continua de *C. utilis* NRRL Y-660 en diferentes formulaciones para mezclas vinazas:melazas/nutriente de levadura QZ-350. Temperatura 32°C; 80 mM de O₂/L-h; pH 4.5.

Los resultados obtenidos permitieron contar con más de 5 diseños de medios de cultivo para la propagación de *C. utilis* combinando vinazas como única fuente de Carbono con otras fuentes nutritivas como sales nitrogenadas (sulfato de amonio y/o urea), así como mezclas con mieles, meladura y nutriente QZ-350 como aportadores de prebióticos (**Anexo 6**).

II.4. Resultado 04. Validación tecnológica

Experimentos en Planta Piloto para el diseño de la Tecnología.

El empleo de vinazas representaría una significativa reducción de los costos de producción de la levadura forrajera, pero al analizar la distribución de los componentes del costo pudo apreciarse que el mayor peso se localizaba en el elevado consumo de energía y los altos precios de las sales nutrientes empleadas en la biosíntesis proteica (sulfato de amonio y fosfato de amonio), de aquí que resultaba vital estudiar tanto la reducción de las demandas energéticas, así como las alternativas de utilización de otras fuentes de nitrógeno de bajo costo.

En esta etapa concerniente a la validación de la tecnología, uno de los objetivos abordados fue el de encontrar opciones más económicas de fuentes de nitrógeno. Tomando como referencia los resultados diseminados por García *et al* en el 2014 (**Anexo 6**), donde se analizaba la influencia de la sustitución del sulfato de amonio por la urea en la propagación de la *Candida utilis*, en vinazas suplementadas con meladura, se decidió analizar su efecto cuando se empleaba como sustrato solamente vinazas de destilerías con nutriente de levadura QZ-350, a escala de Planta-Piloto (5 L) y evaluar el impacto de esta sustitución desde el punto de vista técnico, económico y ambiental.



Figura 4. Vista del sistema de fermentación reactores Marubishi MD 300 (Japón). 5 L, 34°C, pH 4.5 ± 0.5, 1.2 vvm, 650 rpm.

A niveles de 5 L (Figura 4), el uso de la urea permitió alcanzar una $\mu_{m\acute{a}x}$ de 0,211 h⁻¹ similar a la alcanzada cuando se empleó un medio a partir de sulfato de amonio (0,217 h⁻¹).

Estos experimentos contribuyeron a la formación de recursos humanos a través de la presentación de una Tesis de Diploma para optar por el grado de Ingeniero Químico, excelentemente defendida en el Instituto Superior Tecnológico “J. A. Echeverría (ISPJAE) en junio del 2015, La Habana, Cuba. Por su impacto económico los resultados fueron ampliamente diseminados en diversos foros como en el Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados (Diversificación 2015), La Habana, Cuba por Moré y colaboradores (**Anexo 7**), así como por Pérez *et al* en el 2016 en una publicación cubana (**Anexo 8**). Estos autores demostraron que los niveles de consumo de H₂SO₄ obtenidos indicaron que con el uso de la urea, los volúmenes demandados eran 1,5 veces mayores a los requeridos cuando se empleaba el sulfato de amonio, sin embargo, se confirmó que para las condiciones cubanas de precios de importación de materias

primas (sulfato de amonio, urea, hidróxido de sodio y ácido sulfúrico) el empleo de urea aseguraba una disminución de un 49.9% en el costo de las materias primas.

Tabla 6 Influencia de la tasa de dilución y la concentración celular sobre la producción de levadura

Tasa de dilución, h ⁻¹	Kg de lev/h	Kcal/h x 10 ⁶	Producción, t/día
X= 10 g/L ; V = 100 m ³			
0.33	330	1.254	7.920
0.30	300	1.140	7.200
0.27	270	1.060	6.480
0.25	250	0.950	6.000
X= 8 g/L ; V = 100 m ³			
0.33	264	1.000	6.336
0.30	240	0.912	5.760
0.27	216	0.820	5.184
0.25	200	0.760	4.800

La Tabla 6 muestra el efecto de uno de los más importantes parámetros operacionales de esta tecnología (la tasa de dilución y concentración celular) sobre la producción de levadura a nivel industrial, ensayada a nivel industrial (220 m³ en fermentador Vogelbush (Austria), en la planta de levadura Torula “A. Guiteras”, Las Tunas, Cuba.

Estudios de digestibilidad aparente

La valoración nutricional de la levadura de vinazas seca inactiva obtenida a partir de la tecnología validada a nivel industrial, fue desarrollada con 64 conejos, machos y hembras, de la raza Nueva Zelanda Blancos (*Oryctolagus cuniculus*), con 30 días de edad en jaulas individuales y 20 agutíes adultos machos y hembras

(*Dasyprocta agouti*) (Figura 5), a través de ensayos de digestibilidad aparente. Estos resultados fueron divulgados por Hosken *et al* en el 2015 (**Anexo 9**).

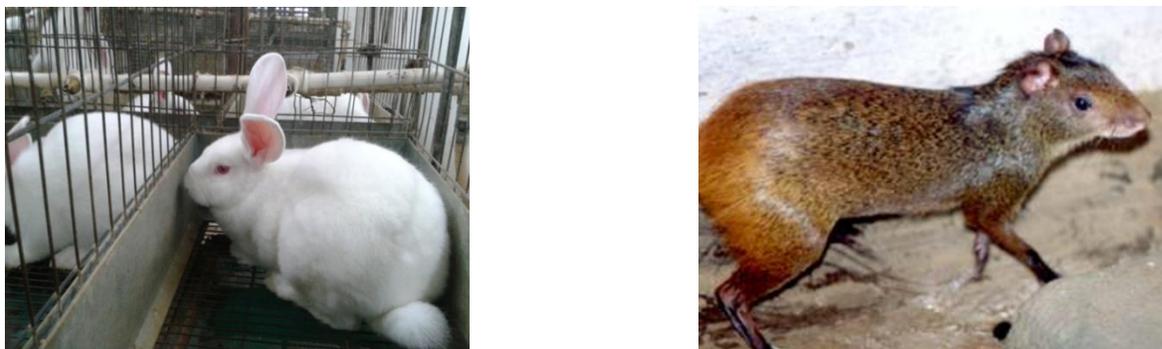


Figura 5. Especies monogástricas empleadas en los estudios para la validación tecnológica. Izquierda: conejos raza Nueva Zelanda blancos, derecha: aguties (*Dasyprocta agouti*).

Los valores de porcentaje de digestibilidad aparente de la materia seca (CDMS), de la proteína cruda (CDPC), de la fibra en detergente neutro (CDFDN), del extracto etéreo (CDEE) y de la energía cruda (CDEC) para las dietas ensayadas en conejos que contenían levadura de vinaza mostraron que no hubo una diferencia significativa para ninguno de estos indicadores al substituir hasta en un 15 % la harina de soya (dieta control) por la levadura *Torula* de vinazas. En el caso de los aguties los valores de CDEE ($p=0.0536$) y CDEC ($p=0.0421$) sí resultaron significativamente menores para la dieta alternativa ensayada que incluía en un 30 % la levadura *Torula*.

Determinación de los niveles de inclusión en animales mono y poligástricos.

Animales poligástricos

Guevara y colaboradores en el 2015 expusieron ante los participantes del Congreso Internacional Diversificación 2015 (**Anexo 10**) la evaluación de la levadura *Torula* de vinazas como fuente proteica substituyendo en un 50 % un sustituto lácteo importado (NUCLIMIX, CAMPI, México) para su uso en la cría

artificial de terneros y ovino-caprino. El experimento fue realizado con 30 terneras de la línea de leche (Holstein puro y mestizo), de 31 a 90 días de nacidas, mediante un diseño aleatorio con 3 tratamientos y 10 réplicas cada uno.

En el tratamiento control se suministró Raltec, en otro NUCLIMIX mas levadura Torula de vinazas y en otro el NUCLIMIX mas levadura Torula de miel. Los datos se procesaron estadísticamente y la ganancia media diaria fue superior en los tratamientos que contenían levadura Torula indistintamente obtenida a partir de mieles final de caña o vinaza de destilería con respecto al control.

El consumo en el tratamiento con levadura de vinazas fue superior en relación a las otras dos variantes, concluyendo el trabajo que con la inclusión de levadura Torula de vinaza, se obtuvieron ganancias en peso vivo de 638 g/animal/día. La ganancia en peso obtenida en la totalidad de la población alimentada con el sustituto con levadura de vinaza, resultó 2.6 veces mayor que la obtenida con el sustituto importado. No hubo incidencia de diarrea, ni muertes a partir de los 31 días de edad que se inició el suplemento del NUCLIMIX con levadura de vinazas. Se derivó de las conclusiones obtenidas que para este sustituto de producción nacional compuesto por 50 % de levadura vinaza + 50 % de NUCLIMIX se pueden entregar a la industria 18 MM de litros de leche entera, con un beneficio para Cuba de 6.3 MM de USD/año.

Animales monogástricos

Se utilizaron 160 cerdos comerciales Yorkshire-Landrace x Yorkshire (YLxY) de 25 kg de peso vivo con igual proporción de machos y hembras. Durante los experimentos con esta especie no hubo muertes, desechos u otras anomalías en los animales durante el tiempo que duró la prueba y estos consumieron todo el alimento ofrecido según la escala de alimentación.

La Tabla 7 muestra la composición de las raciones ensayadas y los indicadores mostraron que no existieron diferencias significativas para el peso final, ganancia media diaria y conversión alimenticia en ninguno de los tratamientos en estudio

donde se sustituyó parte de la harina de soya por levadura seca o el tratamiento con crema.

Tabla 7. Indicadores de comportamiento en cerdos comerciales para diferentes niveles de inclusión de la levadura de vinazas seca y en crema.

Indicadores	Control soja- maíz	Soja 11.4% + levadura seca 12.5% + maíz 74%	Soja 6% + levadura seca 18% + maíz 73.9%	Soja 3% + maíz 74% + crema levadura*	ES ±
No. Animales	40	40	40	40	
Peso inicial, kg	25.5	26.1	26.0	25.8	0.3
Peso final, kg	75.9	77.3	74.7	73.7	0.3
Ganancia media diaria, g	600	610	580	570	20
Conv. Kg MS/kg aumento	4.5	4.4	4.6	4.7	0.1

Por su parte los experimentos realizados en conejos con dietas peletizadas para no alterar su composición físico-química (Tabla 8) no reflejaron efectos significativos ($p > 0.05$) para ninguno de los indicadores productivos al sustituir hasta en un 15 % la harina de soya por Torula en una dieta basal compuesta por heno de alfalfa, MDPS, maíz, Premix y D,L-metionina. Los animales terminaron a los 72 días con ganancias en 38 gramos de peso, índice productivo semejante a los estándares europeos.

Tabla 8. Indicadores productivos de conejos a los 71 días de edad para diferentes niveles de inclusión de la levadura de vinazas seca.

Indicadores	0% Torula control	5% Torula	10% Torula	15% Torula	ES ±
Peso final , gr / conejo	2203,92	2233,29	2193,27	2228,14	71,94
Ganancia de peso,gr dia/conejo	37,49	38,18	37,40	38,03	1,58
Consumo total, g	4.912,42	4.985,00	4.946,40	4.944,29	184,31
Conversión (Kg /Kg)	3,24	3,20	3,25	3,19	0,10

Se empleó la levadura de vinazas en sustitución parcial del maíz y la harina de soya en cuatro tratamientos con cantidades variables de levadura como fuente de proteínas en experimentos conducidos con gallinas ponedoras. Los resultados fueron satisfactorios en cuanto a los indicadores principales de producción, la Tabla 9 muestra estos resultados.

Tabla 9. Comportamiento productivo de gallinas ponedoras al sustituir la proteína por levadura *Torula* de vinaza a diferentes niveles de inclusión. Valores con diferente exponente difieren entre sí para $\alpha \leq 0.05$ (1) Medias transformadas según $\sqrt{\%}$ (2) Medias transformadas según \sqrt{x} (3) kilogramos de pienso / kg masa huevo (4) kg de pienso /decena de huevo

Indicadores	Control	Levadura de vinazas, %			EE \pm
		5	10	15	
Intensidad puesta ¹ , %	69.33 ^a (87.43)	71.05 ^{ab} (89.14)	72.76 ^{bc} (90.97)	73.34 ^c (91.52)	0.126
Huevo/ave ² , unidades	9.25 ^a (85.67)	9.35 ^{ab} (87.35)	9.44 ^{bc} (89.16)	9.47 ^c (89.69)	0.05
Peso huevo, g	60.07 ^a	62.13 ^b	62.27 ^b	62.40 ^b	0.36
Conversión masa ³ , kg/kg	2.54 ^b	2.41 ^a	2.36 ^a	2.34 ^a	0.02
Conversión alimenticia ⁴ , kg/decena	1.53 ^c	1.50 ^{bc}	1.47 ^{ab}	1.46 ^a	0.01
Viabilidad, %	71.05 (85.67)	73.91 (87.35)	76.78 (89.16)	77.92 (86.69)	0.04

Al sustituir la proteína de la dieta por levadura de vinaza se observó un aumento en la producción de huevos por ave y la intensidad de puesta siendo superior al incluir 10 ó 15% de levadura.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se pudo sustituir hasta el 15 % de la proteína de la dieta por levadura de vinaza en gallinas ponedoras, con un incremento en la producción de huevos por ave sin afectar la viabilidad. La levadura de vinaza debe ser considerada como un alimento potencial para ser utilizado en la dieta de gallinas ponedoras por su oferta en el mercado nacional cubano a un precio competitivo con la torta de soja.

La inclusión en dietas, para los animales evaluados (terneros, cerdos, conejos y gallinas ponedoras), de levadura de vinaza constituye una solución social, ambiental y para la producción animal sin lugar a dudas.

Ensayos de digestibilidad *in vitro*.

Las vinazas de destilería, además de constituir materia prima para la producción biotecnológica de levadura *Torula* a través de un sistema de fermentación aerobio en continuo, puede ofrecer una solución tecnológica interesante para la formulación de productos dirigidos a la alimentación animal (contenido en levadura *Saccharomyces*) y de esta forma reducir el impacto ambiental de este efluente generado a elevados volúmenes.

El valor de la energía nutritiva en alimentos para conejos usualmente se expresa como energía digerible, mediante técnicas *in vivo* de balances ingesta/excreta que requieren del cálculo del contenido energético de cada ingrediente, lo cual en muchos casos no resulta confiable, además de que resultan caros, consumen tiempo, requieren de grandes cantidades de alimento y no conciertan con el creciente interés hacia el bienestar animal.

Como técnica de digestibilidad *in vitro*, para estimar el contenido de energía digerible de 5 dietas iso-nutritivas para conejos, formuladas con mezclas de vinazas de destilerías y bagazo de caña de azúcar, se empleó la técnica de formación de gas empleando un inóculo de población microbiana a partir del contenido cecal (simulación del intestino ciego) (Figura 6), cuantificando parámetros fermentativos.



Figura 6. Transportación del contenido cecal de conejos para experimentos de digestibilidad *in vitro*.

Los experimentos fueron conducidos siguiendo metodologías descritas en la literatura, realizando un análisis factorial 2^2 (bagazo autoclavado o no x adición o no de vinaza) con tratamiento adicional (control).

Los resultados aún no publicados, sugirieron que a partir de parámetros fermentativos *in vitro* empleando el contenido cecal como inóculo, se puede predecir la digestibilidad *in vivo* de dietas para conejos formuladas con residuales de la industria sucro-alcoholera, algunos de ellos de alta carga contaminante como la vinaza. Los coeficientes de digestibilidad *in vivo* para la materia seca, materia orgánica y energía estuvieron altamente correlacionados matemáticamente con parámetros *in vitro* como la pérdida de materia orgánica y la producción de gas potencial. La digestibilidad *in vitro* no tuvo diferencias significativas en relación con la dieta control ($p > 0.05$) con valores de 70.39 % con respecto a las variantes que contenían vinazas (73.51% con bagazo natural y 70.61% con bagazo autoclaveado).

Evaluación de la ejecución de los experimentos de reproducción en animales monogástricos.

El alevinaje se considera una fase vital dentro del manejo integrado de la actividad reproductiva en peces y comprende desde la eclosión hasta el tamaño en el cual los alevines se pueden sembrar para el engorde. La tecnología de cultivo de claria

(*Clarias gariepinus*) en Cuba contempla una etapa de alevinaje superintensivo para obtener peces de 10 gramos de peso promedio en 35 días, utilizando un alimento balanceado comercial de 48% de proteína bruta, cuya base es la harina de pescado (60% de inclusión), pero en la actualidad es difícil su adquisición por la poca disponibilidad de esta materia prima dado sus precios en el mercado internacional.

La Tabla 10 muestra el porcentaje de sobrevivencia y algunos indicadores de esta etapa reproductiva para esta especie, a diferentes dietas con variación en los niveles de inclusión de levadura *Torula* de vinaza, en sustitución de la harina de pescado, concluyéndose que puede sustituir hasta un 20% de la harina de pescado en el alimento comercial utilizado para el alevinaje super-intensivo de esta especie, representando un ahorro de 25,26 % en el costo de alimentación de éstos.

Tabla 10. Resultados obtenidos con las dietas experimentales en alevines de claria

Indicador	0 % Torula	10 % Torula	20 % Torula
Peso medio final, g	19.74 ± 2.21	19.58 ± 2.19	21.26 ± 2.73
Ganancia, g/día	0.47 ± 0.07	0.46 ± 0.06	0.50 ± 0.07
Conversión alimentaria	1.43 ± 0.15	1.49 ± 0.11	1.29 ± 0.09
Eficiencia proteica	1.50 ± 0.13	1.43 ± 0.10	1.79 ± 0.04
Supervivencia, %	73.66 ± 0.06	74.66 ± 0.05	78.00 ± 0.06

Evaluación de las características de las carcasas.

Esta etapa fue desarrollada con el objetivo de determinar el valor nutricional de dietas semi-simplificadas a base de heno de Tifton 85 de diferentes calidades enriquecidos o no con vinaza de destilería en proporción 2:1 (v/m), sobre el rendimiento de la carcasa en conejos Nueva Zelanda blancos en crecimiento. Los parámetros evaluados fueron el peso de la carcasa caliente (sin cabeza y eviscerada) y el rendimiento de carcasa. La Tabla 11 refleja estos resultados que fueron generalizados por Coelho *et al* en el 2016 (**Anexo 11**).

Tabla 11. Características de la carcasa con diferentes dietas que incluyen vinazas de destilerías. (PV): peso vivo, (SUP¹): dieta con heno de Tifton 85 de calidad superior no enriquecido con vinaza, (SUPV²): dieta con heno de Tifton 85 de calidad superior enriquecido con vinaza natural. (ns): no existen diferencias significativas.

Características de la carcasa	SUP¹	SUPV²	CV %	p
Peso de carcasa, g	1001.02	1034.57	10.84	ns
Rendimiento de carcasa, % PV	49.61	50.21	3.65	ns

Se puede apreciar que la adición de la vinaza en la dieta que contenía heno de Tifton 85 de calidad superior no repercutió sobre el peso final y rendimiento de la carcasa de los conejos, hecho que demuestra que este subproducto de la industria sucro-alcoholera puede constituir una alternativa interesante para la sustitución parcial de ingredientes costosos para la formulación de raciones para este monogástrico.

Aunque dos de las tareas previstas dentro del marco de este proyecto no fueron ejecutadas precisamente con levadura de vinazas, sino con vinaza propiamente dicha como otra alternativa a evaluar, constituyen resultados de gran impacto precisamente por representar una solución local para pequeños productores. Este es el caso por ejemplo del Estado de Minas Gerais, en Brasil, donde existen aproximadamente 5000 productores de aguardiente en pequeñas *cachaçerías* o alambiques, generadores de fuentes de contaminación y esta situación urge de soluciones simples ambientales locales que a su vez brinden una salida alternativa para la producción animal y el autoconsumo.

II.5. Resultado 5. Estudios de factibilidad técnico-económica y de mercado.

Tarea Técnica

Una Tarea Técnica constituye la base tecnológica de diseño de un Proyecto constructivo de una instalación productiva.

Como parte integrante de las salidas de este Proyecto se elaboró el documento concerniente a la Tarea Técnica titulado Proyecto Planta de Producción de Levadura Torula (**Anexo 12**), el cual tuvo como objetivo resumir los aspectos más importantes de la descripción tecnológica de una planta de levadura forrajera (Torula), que utilizará como fuente de carbono y energía fundamentalmente los residuales de una destilería de alcohol, comúnmente conocidos como vinazas.

A continuación se relaciona el contenido de la Tarea Técnica el cual aborda desde aspectos informativos sobre el estado del arte en este tipo de producción biotecnológica, hasta los aspectos netamente técnicos y operacionales como la descripción tecnológica, balances, índices de consumo, hasta llegar al tratamiento de los residuales generados:

INDICE DE LA TAREA TECNICA:

INDICE

1.	INTRODUCCION	3
2.	DESCRIPCIÓN TECNOLÓGICA	6
2.1.	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	6
2.1.1.	RECEPCIÓN Y PREPARACIÓN DE VINAZAS	6
2.1.2.	PREPARACIÓN DE LAS SALES NUTRIENTES Y OTROS MATERIALES	7
2.1.3.	FERMENTACIÓN Y DESEMULSIÓN	9
2.1.4.	SEPARACIÓN Y LAVADO	11
2.1.5.	TERMÓLISIS Y CONCENTRACIÓN	12
2.1.6.	SECADO Y ENVASE	13
2.1.7.	SERVICIOS AUXILIARES	14
2.2.	INSTRUMENTACIÓN Y CONTROL	16
2.3.	CARACTERÍSTICAS DE LAS MATERIAS PRIMAS	17
2.4.	CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO FINAL	19
3.	BALANCE DE MATERIALES Y ENERGIA	22
4.	INDICES DE CONSUMO	24
5.	LISTADO DE EQUIPOS TECNOLOGICOS.	25
6.	REQUERIMIENTOS DE MANO DE OBRA.	31
7.	SOLUCIONES DE TRATAMIENTO DE RESIDUALES.	31
8.	BIBLIOGRAFÍA	34

La Figura 7 describe el diagrama de flujo de esta propuesta tecnológica para una planta de 40 toneladas de levadura por día, base 92 % de materia seca.

La propuesta se caracteriza por ser un proceso continuo en el cual las vinazas aportan la fuente de energía. Esta producción se efectúa mediante 7 unidades de proceso básicas:

1. Recepción y preparación de materias primas
2. Preparación de sales nutrientes
3. Fermentación y desemulsión
4. Separación y lavado
5. Termólisis y concentración
6. Secado y envase
7. Facilidades Auxiliares.

Esta Tarea Técnica no se basó en conceptos rígidos, sino que fue elaborada sobre la base de que puedan adaptarse cambios que impacten positivamente sobre los costos de producción, por lo general siempre asociados a las materias primas y la energía. El acápite siguiente valora algunas alternativas.

Diagrama de Flujo de Producción de levadura forrajera

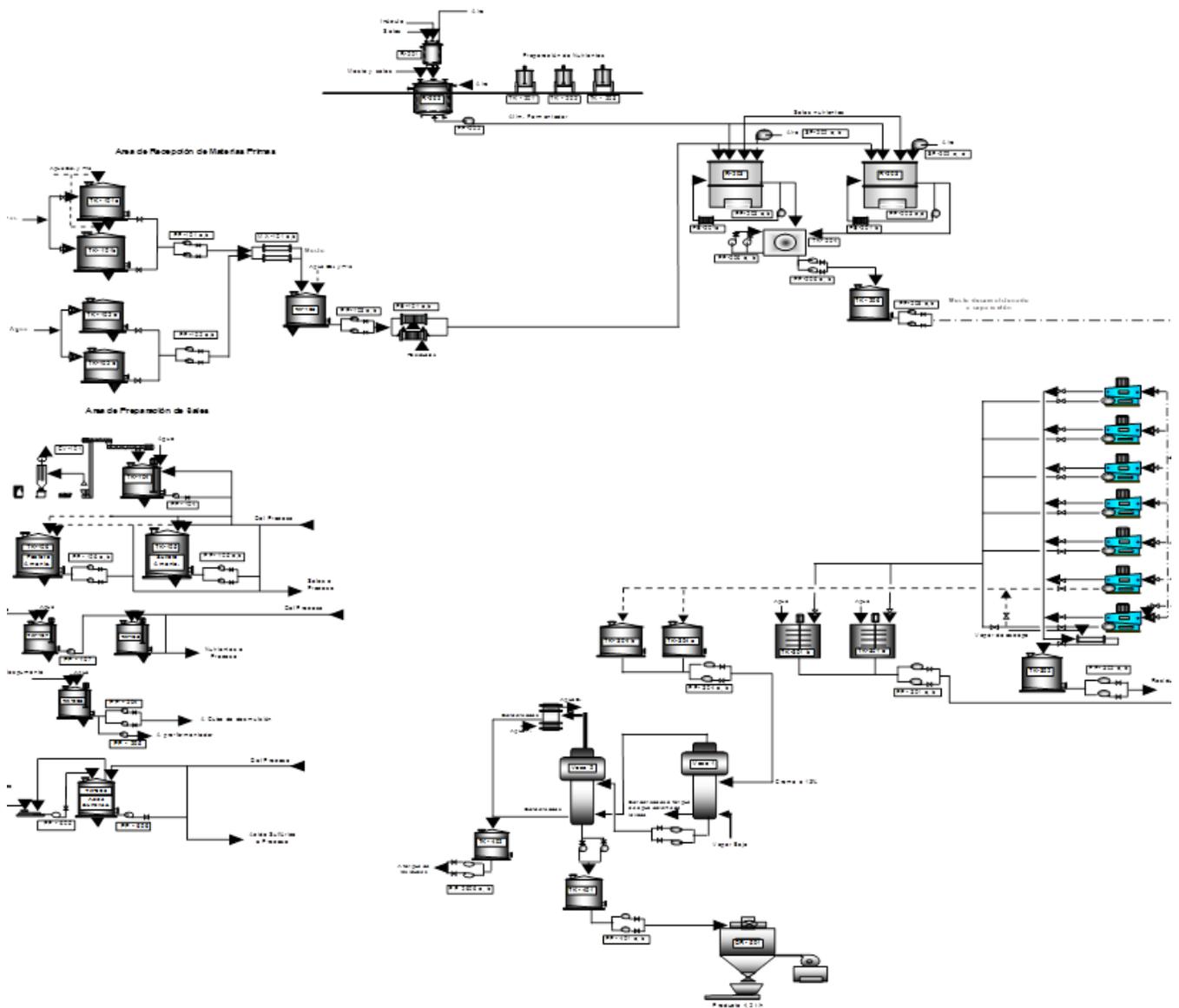


Figura 7. Diagrama de flujo de propuesta tecnológica para una planta de 40 toneladas de levadura de vinazas por día, base 92 % de materia seca.

Estudios de factibilidad técnico-económica.

Debido a las serias limitaciones financieras que tiene Cuba, la obsolescencia del equipamiento tecnológico que enfrentan las fábricas de levadura Torula sobre las cuales se adaptó la tecnología para la producción a partir de vinazas, el bajo nivel de automatización y los altos costos de los insumos, se consideró conveniente elaborar un estudio de actualización de mercado, sobre la base de la Tarea

Técnica presentada, que permitiera adaptar a esta ultima diferentes alternativas encaminadas a reducir los costos de producción de la levadura *Torula*. Estos estudios fueron presentados por Torres y colaboradores en el 2015 durante el Congreso Internacional Diversificación 2015 (**Anexo 13**) y luego fueron publicados en el 2016 en la Revista Centro-Azúcar de amplia divulgación en el sector sucro-alcoholero (**Anexo 14**).

El sulfato de amonio y fosfato de amonio, descritos en la Tarea Técnica como fuentes de nitrógeno y fósforo respectivamente, son materias de importación con elevados precios en el mercado internacional. Por otro lado, el proceso descrito puede conllevar elevados costos energéticos, dados por dos razones fundamentales: altos consumos de energía eléctrica debido, fundamentalmente, al consumo en sopladores para la fermentación y en máquinas separadoras y el consumo energético de la concentración y secado de la levadura.

Fueron evaluadas 4 alternativas posibles que pudieran impactar sobre los costos actuales de producción (749.36 CUC/ton):

Alternativa I: Sustitución del sulfato de amonio por urea.

Alternativa II: Cambio de motores y equipos consumidores.

Alternativa III: Sustitución del 60 % del combustible por energía renovable (generación de biogás).

Alternativa IV: Sustitución del sulfato de amonio por urea, cambio de motores y equipos consumidores y sustitución del 60 % del combustible por energía renovable (generación de biogás)

Los valores de los indicadores económicos de rentabilidad de la inversión para cada alternativa, se obtuvieron considerando un flujo de caja constante, generado a partir de la reducción de los costos de producción, y una estimación del presupuesto asociado a cada alternativa. Por otra parte, se asumió un nivel de producción de 1500 t/a que representa menos del 50% del aprovechamiento de la capacidad potencial que tienen las plantas actualmente. La estimación de los

presupuestos de inversión se realizó a partir de la información de Moré y colaboradores en el 2015 (**Anexo 7**).

El método de cálculo propuesto, tuvo su fundamento en el ajuste del valor del dinero en el tiempo a partir de un factor de descuento pre-establecido, en este caso del 12%. Los indicadores de rentabilidad calculados fueron: Valor Actualizado Neto (VAN), tasa interna de retorno (TIR) y periodo de recuperación de la inversión. En todos los casos, los análisis se realizaron en CUP (peso cubano) y CUC (peso convertible).

Desde el punto de vista energético las tecnologías vinculadas con el desarrollo de motores eléctricos han evolucionado de forma que los mismos no solo son más compactos y de menor peso para idénticos propósitos, sino que sus consumos energéticos son inferiores. En la Tabla 12 se evidencia que mediante la sustitución de equipos existentes por otros más modernos de igual capacidad o mediante el empleo de un menor número de unidades de mayor capacidad es posible reducir el consumo de electricidad en máquinas centrífugas y sopladores hasta en un 30%.

A partir de los resultados obtenidos se pudo inferir que los factores de mayor impacto sobre los costos de producción de la tecnología descrita en la Tarea Técnica pueden ser: en primer lugar, los costos de los insumos de producción (las sales de amonio que se emplean); en segundo lugar, los costos energéticos, para lo cual se propone la utilización de una fuente de energía renovable (biogás) y en tercer lugar, la modernización del equipamiento que tienen las plantas actualmente.

Todas las alternativas pueden tener un impacto positivo en la reducción del costo de producción, siendo la alternativa IV la más efectiva. Esta última, que representa la conjugación simultanea de las alternativas I a III, es la única que es factible económicamente en divisas, mientras que ninguna alternativa, por separado, es factible económicamente en moneda total.

Tabla 12. Alternativas para la reducción del consumo de electricidad.

	Equipos existentes			
Equipos de alto consumo	Cantidad	Capacidad	Potencia (kW)	Índice
Sopladores de fermentadores	3	1100 m ³	350	0,32 kWh/m ³
Centrifugas	7	60 m ³ /h	aprox. 175	2,9 kWh/m ³
Soplador de secador	1	40 t lev./d	100	60 kWh/t de lev.

	Equipos modernos (Diseño de nuevas plantas)			
Equipos de alto consumo	Cantidad	Capacidad	Potencia (kW)	Índice
Sopladores de fermentadores	1	1100 m ³	160	0,18 kW/m ³
Centrifugas	2	120 m ³ /h	184	1,9 kWh/m ³
Soplador de secador	1	100 t lev/d	120	36 kWh/t de lev

Presumiblemente, estos resultados se pudieran mejorar, por economía de escala, si se incrementara el aprovechamiento de la capacidad potencial de las plantas.

Transferencia tecnológica de procesos validados hacia empresas cubanas.

Los contratos de transferencia tecnológica son aquellos en virtud de los cuales se transmite el uso o se autoriza la explotación de patentes, marcas, nombres comerciales, modelos industriales, se suministran conocimientos técnicos y *know-hows*; se provee ingeniería para la construcción de instalaciones o para la fabricación de productos o se prestan servicios de asistencia técnica, de administración de empresas, de asesoría o de consultoría.

Acorde a lo anterior, la tecnología de producción de levadura *Torula* a partir de vinazas, apoyada en la elaboración de una Tarea Técnica, una constante actualización en cuanto a estudios de factibilidad técnico-económica del proceso, la elaboración de manuales de procedimientos de operación y manuales para el control de calidad, cursos de capacitación, entre otras acciones constituyo una propuesta transferible no solo para ampliar esta estrategia en el mercado nacional, sino también con un alcance hacia el mercado externo.

La Tarea Técnica presentada fue la herramienta utilizada para modificar algunas de las Plantas de Producción de Levadura *Torula* existentes en Cuba a partir de mieles finales, sustituyendo estas por las vinazas generadas en destilerías aledañas. Hoy en día operan bajo este esquema 3 plantas de 20 ton/día en las provincias Cienfuegos, Granma (Figura 8) y Las Tunas. Estas fábricas contaron con los Manuales de Operación y de Técnicas de Laboratorio correspondientes a cada etapa operacional y de forma constante especialistas involucrados en el desarrollo de esta tecnología brindan cursos de capacitación y asesorías a tecnólogos industriales de estas plantas, vinculando de esta forma la ciencia con la producción.



Figura 8. Vista aérea de fábrica de levadura *Torula* a partir de vinazas de destilería “Arquimides Colina”, provincia Granma, Cuba.

Este proceso de transferencia, no resulta fácil ya que involucra varias formas de transmisión del conocimiento y activos intangibles como pueden ser: la documentación que contenga la ingeniería básica, conceptual y de detalle, cursos de capacitación de diferentes tipos y grados de profundidad, control de autor y asesoría para la procura de equipos, asistencia técnica para el montaje y puesta en marcha, así como licencias de marcas y secretos empresariales.

La transferencia de tecnologías como esta puede constituir una fuente de ingresos para institutos de investigación aplicada como el ICIDCA, además del efecto que puede representar para países de nuestra región como Cuba la generalización de esta tecnología y la comercialización de su producto final (levadura seca inactiva), tanto en el mercado nacional como en el exterior.

Estas actividades de gestión de la innovación, permitirán convertir activos intangibles en tecnologías, productos y servicios de amplio impacto social y económico y bajo impacto ambiental, así como contribuir a sustituir importaciones y potenciar las exportaciones. Para países en vías de desarrollo como el nuestro, y en especial por el sector de la agroindustria azucarera, se hacen indispensables estos procesos de transferencia tecnológica para la sostenibilidad como Instituto de Investigaciones operando bajo un modelo económico empresarial.

II.6. Relación de Anexos

1. Convenio Marco para la Colaboración científico –técnica establecido entre el ICIDCA y la Universidad Autónoma de México-Unidad Ixtapalapa en 2016.
2. Presentación del Ing. Gustavo Saura (Coordinador General del Proyecto) en Reunión de Cierre, 22 de noviembre del 2016, La Habana, Cuba.
3. Presentación del Dr. Walter Motta (Coordinador por la Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil) en Reunión de Cierre, 22 de noviembre del 2016, La Habana, Cuba.
4. Presentación del Dr. Leandro Páramo (Coordinador por CeBiot, Nicaragua) en Reunión de Cierre, 22 de noviembre del 2016, La Habana, Cuba.
5. Minuta de la Reunión de Cierre
6. García, R., Izquierdo, Y., Ribas, M., Tortoló, K., Ibáñez, M., León, O., Saura, M. y Saura, G. Effects of urea supplementation on *Candida utilis* biomass production from distillery waste. *Waste and Biomass Valorization*, Springer. 2014. 5 (1): 119-124. DOI 10.1007/s12649-013-9209-z.
7. Moré, M., Pérez, I., Ibáñez, M., Ribas, M., García, R., Saura, G. Impacto del uso de la urea en la producción de levadura *Torula* a partir de vinazas de destilerías. *Memorias del Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados Diversificación* 2015. Pp. 792-795.
8. Pérez, I., Moré, N., Ribas, M., Ibáñez, M., García, R., Saura, G., Almazán, O. Urea comercial como fuente de nitrógeno en la producción de proteína unicelular de vinazas de destilerías. *Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*. 2016. 6 (1): 2-11.
9. Hosken, F., Motta, W., Alves, F., Silva, C., Mota, K., Ortiz, A. Digestibility of diets and nutritional value of torula yeast (*Candida utilis*) for rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and agoutis (*Dasyprocta* spp.). *SEMINA: Ciências Agrárias*, Londrina. 2015. 36 (4): 2893-2908. DOI 10.5433/1679-0359.2015v36n4p2893.
10. Guevara, C. A., Rodríguez, V., Suárez, C., Rodríguez, A., Rodríguez, I. Validación del uso de la levadura forrajera (*Candida utilis* NRRL Y-660), a

- partir de vinaza y miel en la fabricación de los sustitutos lecheros para la alimentación de los terneros(as) en cría artificial. Memorias del Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados Diversificación 2015. Pp. 520-523.
11. Coelho, C., Motta, W., Mota, K., da Rocha, L., Noronha, T., Barbosa, M., Silva, C., Alves, F. Utilização digestiva e produtiva de dietas semi simplificadas com fenos enriquecidos com vinhaça para coelhos em crescimento. B. Indústr. Anim., Nova Odessa. 2016. 73 (1): 1-8.
 12. Documento Tarea Técnica Proyecto Planta de Producción de Levadura, ICIDCA.
 13. Torres, A., Díaz de los Ríos, M., Saura, G. Factibilidad económica de diferentes alternativas de inversión que producen una disminución del costo de producción de la levadura Torula. Memorias del Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados Diversificación 2015. Pp. 356-359.
 14. Torres, A., Díaz de los Ríos, M., Saura, G. Factibilidad económica de diferentes alternativas de inversión que producen una disminución del costo de producción de la levadura Torula. Revista Centro Azúcar. 2016. 41 (1): 20-22.

III. LECCIONES APRENDIDAS

- i. Debe establecerse una estrecha coordinación de las tareas comprometidas con el PNUD, con la Entidad Nacional de Ejecución (ICIDCA) y organismos superiores al que se adscribe (Grupo Empresarial AZCUBA). Esto garantizará una correcta disponibilidad de recursos logísticos como la eficiente importación de bienes y servicios, transportación interna, dietas, etc., así como la redistribución de recursos ante situaciones de riesgo.
 - ii. Deben explorarse y ser puestas en acción estrategias alternativas ante situaciones de riesgo para una ejecución exitosa dentro del cronograma establecido como medios de comunicación más versátiles y económicos, protocolos de investigación con equipamientos y material gastable de fácil adquisición.
 - iii. Los resultados obtenidos deben ser divulgados de forma sistemática no solo con la comunidad científica a través de artículos técnicos en revistas especializadas, sino también a beneficiarios de los resultados (productores, empresas locales, etc.), para su correcta implementación.
-

IV. INFORME ADMINISTRATIVO CONTABLE

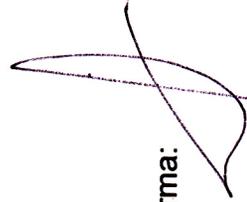
IV.1. Resumen de la situación financiera (USD).

Nombre del proyecto	Presupuesto Total	Ejecución acumulada	Ejecución pendiente	Presupuesto 2016	Ejecución nov.22, 2016	% de ejecución	Saldo por ejecutar
Proyecto Guerrero: Pérez Descontaminación de residuales de destilería mediante propagación de proteína microbiana (DRD/PPM)	32,000.00	6,853.80	25,146.20	25,146.20	18,986.75	80.75	6,159.45

Hasta el cierre financiero del 22 de noviembre del 2016 el Proyecto requiere ejecutar un 9.25 % (2,959.45 USD) del presupuesto total, más el 10% restante (3,200 USD) que se habilitará luego de la entrega del informe final.

Nombre: Ing. Gustavo Saura Laria
Jefe de Proyecto

Firma:



Fecha: 05/12/2016

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)