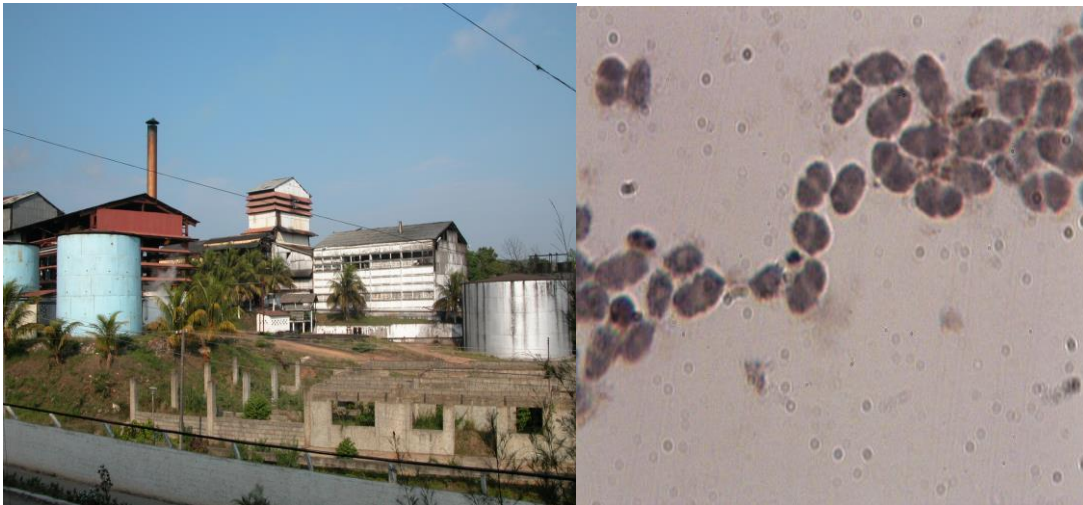




*Al servicio
de las personas
y las naciones*

Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

INFORME DE PROYECTO ANUAL 2015



Proyecto: Descontaminación de residuales de destilería mediante propagación de proteína microbiana (DRD/PPM)

Fecha: 12 de febrero de 2016



Al servicio
de las personas
y las naciones

Cuba

INFORME DE PROYECTO (ITP)

1. Información básica del proyecto

Número y título del proyecto: **Descontaminación de residuales de destilería mediante propagación de proteína microbiana (DRD/PPM)**

Asociado en la implementación / Entidad Nacional de Ejecución:

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

Otras partes responsables: (si las hubiera)

CeBIOT (Centro de Biotecnología), Nicaragua

UFMG (Unidad de Fermentaciones de Mato Grosso), Brasil

Fecha de inicio:

Prevista originalmente: **junio 2013**

Real: **junio 2014**

Fecha de término:

Prevista originalmente: **diciembre 2015**

Estimada: **diciembre 2016**

Período del informe: **enero–diciembre 2015**

2. Progreso en la implementación del proyecto

Estado de los Riesgos en la actividad:

Definición del riesgo	Acción	Responsable
<p><u>En relación con la gestión comercial pueden presentarse:</u></p> <ul style="list-style-type: none">Afectaciones en la compra de equipos dado el nivel de especialización que requieren.Aumento de los precios de los equipos en el mercado.	<ul style="list-style-type: none">Búsqueda de alternativas de proveedores en el exterior y en algunos casos sustitución por artículos nacionales.Planificar para inicios del proyecto los insumos de mayor complejidad e iniciar la licitación desde el inicio. Establecer un orden de prioridad de adquisición de equipamiento.	ICIDCA
Disponibilidad de transporte para viajes al interior del país donde se encuentren las plantas de alcohol para la realización de las	Seguimiento de los aportes locales constituidos por el ICIDCA, Grupo Empresarial AZCUBA y empresas	ICIDCA

tareas.	involucradas para los apoyos en transportación, hospedaje y atención a los especialistas implicados en las tareas.	
Cambios de personal técnico que puedan duplicar esfuerzos de capacitación.	<ul style="list-style-type: none"> • Sistema de seguimiento con las instituciones y empresas comprometidas en cuanto a la asignación de recursos humanos a capacitarse. • Propiciar encuentros a través de sesiones de trabajo, intercambios y talleres entre los técnicos capacitados de las empresas involucradas. 	ICIDCA
Afectación en la extensión de los resultados del proyecto y la aplicación de las soluciones tecnológicas propuestas.	Interactuar en el marco del proyecto con las autoridades del G. E. AZCUBA para la elaboración e inclusión en los planes de inversión e investigación y extensión de los resultados del proyecto.	ICIDCA
Afectación en la ejecución de tareas planificadas con los recursos del PNUD por atrasos en liberación de fondos.	Reprogramar tareas en base a otros recursos disponibles entre las entidades participantes.	ICIDCA,
Incidencia de ciclones y otros fenómenos meteorológicos que afecten los cultivos de sorgo.	Prever obtener material para experimentación antes de la temporada ciclónica. Tomar medidas en los campos de cultivo que consideren los riesgos y mitiguen los daños.	ICIDCA

Problemas de implementación:

Obstáculo identificado

Acción

Atraso en la liberación de fondos del proyecto

- Uso de recursos propios de las entidades participantes, para la no detención del proyecto durante el primer semestre del proyecto.
- Modificación de estrategias para la ejecución de algunas acciones necesarias a cumplimentarse en el 2016.

3. Desempeño del Proyecto – Grado de avance hacia el logro de los resultados

Resultados esperados en el marco de resultados estratégicos PNUD (2014-2017):

- Fortalecidas las capacidades nacionales para brindar servicios sostenibles de energía, desarrollar medidas para mitigación y adaptación al cambio climático, contribuir con el desarrollo económico sostenible.
- Proveerá los procedimientos para la reducción significativa de la carga orgánica –potencial contaminante- de residuales de destilería (vinazas) mediante la producción simultánea de la biomasa microbiana proteica para la alimentación animal.

Línea de servicio del MYFF que se aplica:

Indicadores de resultados:

1. 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.

Meta anual (año):

- El progreso del Proyecto se medirá a través del informe anual con información detallada sobre la cinética de fermentación del crecimiento de biomasa microbiana en estas aguas residuales.

Cumplimiento de meta:

Esto fue cumplimentado al 100%

Grado de avance en la contribución al resultado corporativo:

- X Cambio Positivo
- Cambio Negativo
- Sin cambios

Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto

Resultado 01.

Act. 01 Búsqueda de información a través de sitios web y revistas científicas

A inicios de la década del 60 del pasado siglo la práctica de uso de levaduras en la alimentación animal se reducía a la procedente de los procesos de producción de etanol. Dos de los usos más atractivos de esta levadura lo constituyen, la producción de alimentos concentrados enriquecidos con proteína verdadera para diferentes propósitos de producción animal y la elaboración de sustitutos lácteos con la consecuente liberación de leche para el consumo humano.

En 1965, comienza a producir la primera planta de levadura 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, con asesoría técnica del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) (ICIDCA, 2002). Estas plantas instaladas eran capaces de alcanzar, en conjunto, 120 000 t/a de levadura seca, con más de 45% de proteína verdadera y 8% de humedad.

En los años 90 a partir de la disminución de la cantidad de miel disponible para esta producción, el ICIDCA modificó la tecnología existente empleando como fuente de carbono y energía, vinazas de destilerías obtenidas a partir de la fermentación alcohólica de mieles finales de caña y desde 1999 operan en Cuba tres instalaciones industriales bajo este esquema (Saura, 2002). Este nuevo esquema trajo consigo la revalorización de este residual con un innegable impacto económico, social y ambiental (Saura, 2000).

Este tipo de plantas hoy en día solo utilizan la miel como pie de cultivo y entre 60 y 70 m³ de vinaza / t de torula producida, disminuyendo entre un 40 y un 50% la carga contaminante de este residual actuando como un sistema de tratamiento de residuales. En la tabla I se resumen las plantas que se encuentran activas actualmente con su capacidad de producción.

Tabla I. Plantas de levadura Torula en operación

PLANTA	Capacidad diseño (t/d)	Capacidad potencial actual (t/d)	Capacidad operación actual (t/d)	Observaciones
Antonio Sánchez	40	27	16	Se utilizan 2 fermentadores de 3, por disponibilidad de vinazas.
Ciro Redondo	30	25	10	Trabaja 5 fermentadores de 6, uno como cuba de desemulsión
Antonio Guiteras	40	21	10	Dispone de 3

				fermentadores, el 4 para enfriamiento de las vinazas
Arquímedes Colina	15	12	10	Posee 2 fermentadores
Total	125	85	46	Hoy se trabaja con el 37 % de las capacidades de diseño de estas plantas

Fuente: Díaz M y col, 2014

En los últimos años, debido a las limitaciones financieras, las compras de recursos para estas plantas se destinan, en lo fundamental a mantenerlas activas, lo que no permite trabajar en la eficiencia de las mismas. Esta situación unida a la mala calidad de las sales nutrientes que reciben (grado fertilizante en lugar de grado técnico), a la obsolescencia del equipamiento, al bajo nivel de automatización y a los altos costos de los insumos han llevado a que esta sea una producción prácticamente incosteable (Pérez, 2012; Pérez et al., 2014).

Aún cuando el empleo de vinazas representa una reducción significativa de los costos de producción de la levadura forrajera, cuando se analiza la distribución de los mismos puede apreciarse que la mayor incidencia está dada por el elevado consumo de energía y los gastos materiales de esta producción, donde estos últimos están fuertemente influenciados por los precios elevados de las sales nutrientes (sulfato de amonio $[(NH_4)_2SO_4]$ y fosfato de amonio $[(NH_4)_2HPO_4]$). Por esta razón resulta de vital importancia estudiar alternativas que puedan contribuir a la reducción de los costos de las sales nutrientes empleadas (Obaya, 2004).

Una buena fuente de nitrógeno debe poseer las propiedades de ser transportada de forma rápida hacia el interior celular, ser convertida rápidamente a glutamato o ión amonio y no debe ser tóxica.

La especie *Candida utilis* posee una gran versatilidad en cuanto al consumo de varios compuestos portadores de nitrógeno, ya sea en forma inorgánica como ión amonio $(NH_4)^+$ o como ión nitrato $(NO_3)^-$. Esta levadura también posee actividad ureasa, lo cual abre el espectro con respecto a la utilización de fuentes nitrogenadas de fácil asequibilidad por su precio y disponibilidad a nivel industrial.

Estos experimentos hicieron evidente la capacidad de asimilación de urea por esta especie, con ganancias netas en biomasa similares con respecto a la suplementación con sulfato de amonio y muy cercana a la biomasa esperada para la cual se realizó el balance de materiales.

En fermentaciones discontinuas, la composición de la población celular se ajusta continuamente a la composición cambiante del medio, y por tanto el estado inicial del inóculo y los métodos empleados para determinar la concentración de la biomasa no siempre brindan una información fidedigna sobre el estado fisiológico de las células. En estos experimentos las mediciones de peso seco para determinar concentración másica resultan las más adecuadas para los cálculos

de parámetros fermentativos, pero realmente no discriminan entre células metabólicamente activas (en estado de replicación o no) y células muertas.

Se ha reportado que para algunas especies de levadura, para una efectiva utilización de esta fuente de nitrógeno orgánica pudiera requerirse la presencia de biotina u otros factores de crecimiento que normalmente están presentes en la miel, pero en la tecnología a partir de vinazas esta suplementación se realiza con el estimulador de crecimiento QZ-350 en concentraciones de 0,03 g.L-1 y que fueron añadidas en iguales cantidades en el diseño experimental para mantener las mismas condiciones de la industria.

En relación al pH, este representa la acidez o alcalinidad de una solución acuosa y su control es de vital importancia para el desarrollo exitoso de cualquier fermentación, ya sea para favorecer una actividad enzimática óptima como para limitar los contaminantes bacterianos que por lo general proliferan en niveles cercanos o superiores a la neutralidad (≥ 7).

El transporte de la urea ocurre mediante dos sistemas diferentes relacionados con la concentración de la misma en el medio, y es desdoblada a dos moléculas de amoníaco y una molécula de anhídrido carbónico por la enzima hidrolítica ureasa que cataliza fácilmente la reacción de descomposición de urea en presencia de agua.

La influencia de la sustitución del sulfato de amonio por la urea [N₂H₄CO] en la propagación de la Candida utilis, en vinazas suplementadas con meladura, se decidió analizar su efecto cuando se emplea solamente como sustrato vinazas de destilerías en microplanta, dándole continuidad a una escala superior (2,5 L). Se evaluó al mejor comportamiento (urea 100 %), la velocidad específica de crecimiento máxima y los consumos de ácido sulfúrico necesarios para mantener el pH en $4,5 \pm 0,5$. Como control fue evaluada la condición de suministro de sulfato de amonio al 100 %, variante tecnológica actual.

Los resultados demostraron la factibilidad industrial del empleo de la urea, cuya suplementación no afecta la velocidad con que se incrementa la masa celular durante la fase exponencial del cultivo con respecto al control. Este hecho reviste especial importancia durante las etapas de propagación industrial en pre fermentadores y durante la etapa de discontinuo en fermentadores al mantenerse los ciclos de los cultivos.

Resultado 02 y 03

Act. 02. Crecimiento microbiano a escala de laboratorio. Cinética de crecimiento en diferentes componentes de las vinazas

Act. 03. Validación en planta piloto

Tomando como referencia el estudio realizado por (García, 2014), donde se analiza la influencia de la sustitución del sulfato de amonio por la urea [N₂H₄CO] en la propagación de la Candida utilis, en vinazas suplementadas con meladura, se decidió analizar su efecto cuando se emplea solamente como sustrato vinazas de destilerías en microplanta, dándole continuidad a los resultados obtenidos a escala de laboratorio para evaluar desde el punto de vista técnico, económico y ambiental su posible introducción en la industria.

Los objetivos trazados fueron los siguientes:

1. Caracterizar vinazas de destilerías como fuente aportadora de carbono para realizar un adecuado balance de materiales.

2. Conocer a nivel de laboratorio la influencia del empleo de urea con respecto al sulfato de amonio dentro del balance de nitrógeno sobre el crecimiento celular, pH final y por ciento de remoción de Demanda Química de Oxígeno (DQO).
3. Comprobar a nivel de microplanta el impacto de la mejor variante obtenida a nivel de laboratorio sobre los parámetros fermentativos: crecimiento celular, velocidad específica de crecimiento y por ciento de remoción de DQO, así como conocer el consumo de ácido sulfúrico.
4. Evaluar técnica y económicamente los resultados obtenidos en los experimentos a nivel de microplanta.

Materiales y Métodos

Caracterización de materias primas

Como fuentes aportadoras de carbono y energía, se emplearon para la formulación del inóculo, miel final procedente de la Unidad Empresarial de Base (UEB) “Melanio Hernández” de la provincia Sancti Spíritus. Para la formulación del medio de crecimiento a nivel de laboratorio, se utilizaron vinazas de la producción de etanol a partir de mieles finales de caña, procedentes de la UEB de Derivados “Melanio Hernández”. La vinaza empleada en los estudios a nivel de microplanta fue colectada en la Unidad Empresarial de Base de Derivados (UEBD) “Jesús Rabi” de la provincia Matanzas.

Ambas vinazas fueron colectadas durante el período de zafra correspondiente al año 2014 – 2015 y fueron conservadas a 4 °C en una cámara fría hasta el momento de su utilización.

Ambas materias primas fueron caracterizadas en cuanto a diversos parámetros físico-químicos como DQO (ICIDCA, 1978), Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) (APHA, 1980), °Brix (ICIDCA, 1975), Azúcares Reductores Totales (ART) (Vázquez et al., 2012), Azúcares Reductores Libres (ARL) (Vázquez et al., 2012), Azúcares Infermentables (AI) (Vázquez et al., 2012), por ciento de cenizas (Vázquez et al., 2012), por ciento de lodos (Vázquez et al., 2012), pH, conductividad, calcio (APHA, 1980), nitrógeno (N) total (Vázquez et al., 2012), fósforo (P) digerido (ICIDCA, 2008) y sulfatos (APHA, 2000), según la materia prima en cuestión.

Características de las sales utilizadas

Tabla II. Características principales requeridas en las sales nutrientes

Sal	Nitrógeno	Fósforo (P2O5)	Humedad	Grado
Sulfato de amonio	19 % (mín.)	-	10 % (máx.). Sin sustancias tóxicas para la fermentación.	Fertilizante
Urea	46 % (mín.)	-	5 - 6 % (máx.). Sin sustancias tóxicas para la fermentación.	Fertilizante
Fosfato diamónico	19 % (mín.)	49% (mín.)	10% (máx.). Sin sustancias tóxicas para la fermentación.	Reactivo

Microorganismos

La cepa utilizada en todos los estudios fue *Candida utilis* NRL-Y660, perteneciente a la Colección de Cultivos Microbianos ICIDCA, identificada taxonómicamente hasta especie mediante galerías API 20C AUX BioMérieux™, Software apiweb® y mantenida a 6 °C en cuñas de medio extracto de levadura^o-^opeptona - glucosa (YPG) agar (glucosa 20 g.L-1, peptona 20 g.L-1, extracto de levadura 10 g.L-1, agar 15 g.L-1).

Crecimiento a nivel de laboratorio

Inóculos

La biomasa obtenida a partir de 2 cuñas YPG de 24 horas fue transferida a matraces invaginados de 500 ml de capacidad nominal con 120 ml del medio de propagación miel final - sales, esterilizado a 121 °C durante 20 minutos. Este medio fue formulado con un contenido de ART aportados por miel final de 27,8^og.L-1, (NH₄)₂HPO₄ 0,9 g.L-1, (NH₄)₂SO₄ 3,3 g.L-1, ambas sales en grado reactivo para este nivel, ajustando el pH a 4,5 con solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M y ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1 N.

Los cultivos fueron crecidos en zaranda termostata GFL® 3033 con agitación rotatoria a 32°C, 180 rpm hasta alcanzar la fase de crecimiento exponencial (16 horas).

Crecimiento en medio vinaza - sales

Los cultivos obtenidos en la etapa de propagación previa fueron inoculados en matraces invaginados de 500 ml de capacidad que contenían 150 ml de los medios a estudiar, manteniendo una razón de 10% (v/v) para un ajuste en la concentración inicial en aproximadamente 45^ox10⁶ células ml-1.

Teniendo en cuenta que una concentración de biomasa de 10 g.L-1, representa la concentración límite en razón del contenido de nutrientes de las vinazas, a escala industrial en este tipo de producción, se dispuso que para la formulación de este medio se realizara el balance de fuentes carbonadas, según los valores de DQO de la vinaza para un rendimiento esperado de 0,20 y la biomasa esperada indicada. El ajuste final de DQO resultó de 50 g.L-1 con una variación de ± 2 unidades acorde con la naturaleza heterogénea de esta fuente.

El fósforo se suministró vía (NH₄)₂HPO₄ grado reactivo para un requerimiento de 3,5 % cuantificado como pentóxido de di fósforo (P₂O₅) en biomasa.

El balance de nitrógeno se realizó según aporte de sales (NH₄)₂SO₄ y/o N₂H₄CO, ambas grado fertilizante (las mismas que se emplean actualmente en la industria), de acuerdo a la matriz del diseño experimental implementado, manteniendo para cada combinación de sales un aporte requerido para el 8% de nitrógeno en biomasa. Fue considerado para este balance el contenido de nitrógeno procedente del (NH₄)₂HPO₄.

La urea fue esterilizada a 0,7 atm durante 15 minutos y añadido al medio ya auto clavado el volumen necesario. Una vez formulado y ajustado el medio a pH 4,5; se incubó bajo las mismas condiciones descritas para la propagación.

Se cuantificó la biomasa obtenida gravimétricamente mediante determinaciones de la Materia Seca Gravimétrica (MSG) (ICIDCA, 1968), así como el pH y la DQO (según metodología referida en el acápite 2.1 centrifugando las muestras a 4 500 rpm) a las horas 0 y 24 de crecimiento.

Cálculos

A partir de las determinaciones analíticas realizadas de DQO y MSG se calcularon los siguientes indicadores técnicos del proceso de producción:

Ganancia neta de biomasa (GB)

$$GB = (MSG_{(final)} - MSG_{(inicial)}) \quad \text{Ec. 1}$$

Porcentaje de remoción de DQO

$$\% \text{ de remoción DQO} = \left(\frac{DQO_{(inicial)} - DQO_{(final)}}{DQO_{(inicial)}} \right) \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Diseño experimental y análisis estadístico

Con el objetivo de poder evaluar la sustitución del sulfato de amonio del medio industrial para la propagación de levadura forrajera por otra más económica, en este caso la urea sin afectar los parámetros de calidad del producto final, se decidió aplicar un diseño experimental de mezclas Simplex-Lattice aumentado con una réplica en tres puntos experimentales para obtener un estimado del error puro. Cada condición experimental se realizó por triplicado y con el objetivo de validar los resultados se decidió realizar una réplica genuina de la matriz experimental. La Tabla III muestra la matriz de diseño con 8 condiciones experimentales obtenida mediante el empleo de la herramienta de software Design Expert versión 6.0.1.

Tabla III. Matriz del diseño experimental en laboratorio

Experimento	Aporte de N vía (NH ₄) ₂ SO ₄ (%)	Aporte de N vía N ₂ H ₄ CO (%)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g)	N ₂ H ₄ CO (g)
1	0	100	0	0,96
2	25	75	0,538	0,72
3	75	25	1,615	0,241
4	0	100	0	0,96
5	100	0	2,15	0
6	100	0	2,15	0
7	50	50	1,077	0,48
8	50	50	1,077	0,48

Las variables respuesta observadas fueron pH final, % de remoción de DQO y ganancia en biomasa.

Estudios a nivel de microplanta

Inóculo

Como en esta etapa se maneja mayor volumen de trabajo se hizo necesario la preparación de un pre-inóculo realizando procedimiento descrito en el acápite 2.4.1. Posteriormente el mismo fue transferido a matraces invaginados de 1000^oml de capacidad nominal con 250 ml del medio de

propagación miel^ofinal^o- sales, esterilizado a 121 °C durante 20 minutos.

Los cultivos fueron crecidos en zaranda termostataada GFL® 3033 con agitación rotatoria a 32 °C, 180 rpm hasta alcanzar la fase de crecimiento exponencial (16 horas).

Crecimiento en medio vinaza - sales

Los experimentos se realizaron en fermentadores Marubishi MD300-5L fabricación 1980 (Figura 1), de capacidad nominal 5 L con controles automáticos para espuma mediante sistema de electrodo por contacto y regulación con bomba peristáltica, temperatura mediante sensor PT100, resistencia 100 + 30W. También cuenta con sistema de agua de enfriamiento; flujo de aire por sistema de aire comprimido (compresor) para disponer de aire seco y filtrado; provistos de agitación regulada mediante motor inducido magnético de velocidad variable.

Este fermentador consta además con un sistema automático regulador de pH mediante bombas peristálticas, con electrodos combinados de 0 - 14 EGA151 con terminación BNC. Las regulaciones de temperatura (°C), agitación (rpm) y energía fueron visualizadas mediante panel de control.

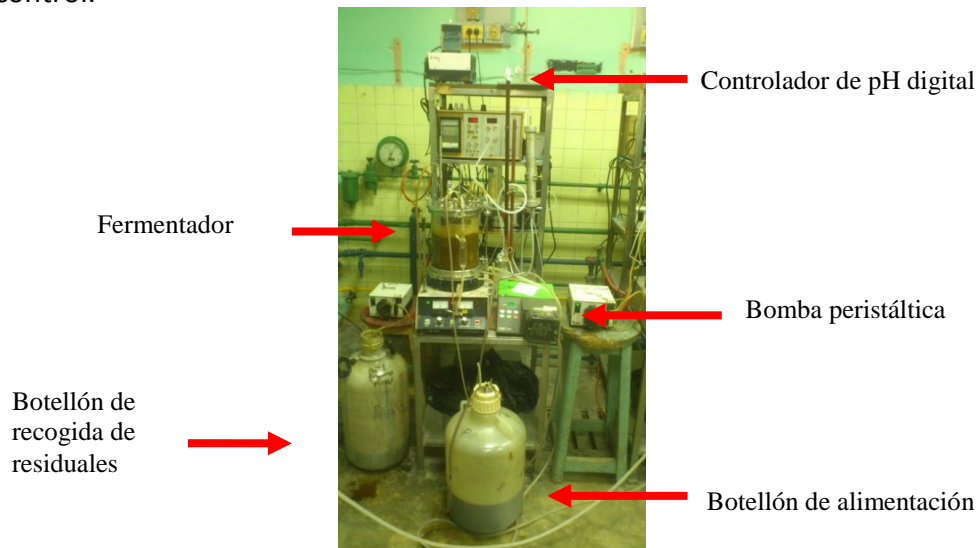


Figura 1.Vista del sistema de fermentación utilizado en micro planta

Para esta escala se trabajó en un volumen efectivo de 2,5 L del medio de crecimiento vinaza - sales descrito anteriormente. Se probó la alternativa: urea 100% junto a la alternativa patrón sulfato 100% todas inoculadas bajo las mismas condiciones de propagación descritas, respetando siempre una relación de inoculación del 10 % (v/v) para este volumen de trabajo para un ajuste en la concentración inicial en aproximadamente 355×10^6 células ml⁻¹. Para corroborar el conteo celular y la viabilidad obtenida en la vista al microscopio así como tener la certeza de que el inóculo proviene de un cultivo puro se realizó la siembra superficial en placas Petri medio diferencial Wallerstein Nutrient Agar (WLN).

Primeramente se desarrolló un cultivo discontinuo hasta alcanzar concentraciones celulares de 10 g.L⁻¹, determinada por Materia Seca Volumétrica (MSV) (ICIDCA, 1968) cada 2 horas. Una vez alcanzado este indicador se comenzó a alimentar el sistema sin variar la composición del medio iniciando un cultivo en continuo con flujo de alimentación del medio de 625 ml h⁻¹ durante 24 horas. Se ajustaron las condiciones de crecimiento a 34°C, pH $4,5 \pm 0,5$, alimentación de aire 1,2 vvm y agitación 650 rpm.

Fue controlada la formación de espuma mediante la adición de antiespumante FKW 2000 (aceite de silicona) y el pH a través de solución de hidróxido de sodio (NaOH) 2 N y ácido sulfúrico (H₂SO₄) 2 N.

En esta etapa del cultivo para comprobar la estabilidad del sistema fueron realizadas a intervalos regulares MSV (a las horas 2, 4, 6, 8 y 10 de la etapa discontinua y cada 4 h en la continua) y DQO (a la hora 0, final de discontinuo, hora 12 del continuo y hora final). Además se cuantificó el volumen consumido de NaOH y H₂SO₄.

Para corroborar el conteo celular y la viabilidad del cultivo se realizó la siembra superficial en placas Petri medio diferencial Wallerstein Nutrient Agar (WLN) en inóculos, así como al finalizar la etapa discontinua y al culminar el experimento.

Se realizó una réplica genuina de este experimento.

Cálculos

La velocidad específica de crecimiento máxima ($\mu_{\text{máx}}$) fue calculada empleando una regresión lineal del $\ln(\text{MSV})$ con respecto al tiempo entre las horas 2 y 10 de la etapa discontinua.

2.5. Análisis económico preliminar de la variante propuesta

Con vistas a obtener mejoras económicas en la tecnología de producción de levadura torula a partir de vinazas de destilerías por concepto de sustitución de sales nutrientes aportadoras de nitrógeno, se incluyó en el análisis económico la variante cuyos parámetros fermentativos mostraron resultados tecnológicamente factibles con respecto al control (sulfato de amonio al 100 %).

Como premisas generales consideradas en el análisis económico se tuvo en cuenta que:

- La moneda utilizada para el análisis fue la Moneda Total (MT) que incluye la suma del valor en Moneda Nacional y en Divisas.
- Las materias primas bajo estudio, se sustentan en índices de consumo previamente establecidos en las fichas de costo elaboradas por el Grupo Empresarial Azúcar de Cuba (AZCUBA) en el 2014.
- Los precios de los insumos para los productos adquiridos nacionalmente o importados se tomaron de la base de precios establecidos por AZCUBA en el 2014.

Resultados y Discusión

Caracterización de las materias primas

Los resultados de la caracterización de la miel empleada en el crecimiento del inóculo aparece en la Tabla IV. Como puede observarse los parámetros se encuentran dentro del rango esperado para su uso en el proceso fermentativo (Norma Cubana, 2009) .

Tabla IV. Principales características de la miel final empleada procedente de la destilería Melanio Hernández.

Parámetro	Melanio Hernández
Azúcares reductores totales, %	57,01
Azúcares reductores libres, %	14,8
Azúcares infermentables, %	3,55
pH	5,72
°Brix	84,36
Materia seca, %	96,51
Nitrógeno total, %	0,21
Fósforo digerido, %	0,15
Lodos, %	4,00
Cenizas, %	7,57

La Tabla V muestra los principales indicadores evaluados en la caracterización de los lotes de vinaza de las destilerías Melanio Hernández y Jesús Rabí empleados como materia prima en este trabajo. Se observó en las mismas una variación al comparar los indicadores de ambas, con excepción del pH, ratificando el hecho de que las propiedades físico-químicas que caracterizan este efluente son volubles. Estas fluctuaciones están comprendidas dentro de valores promedios para vinazas derivadas de fermentaciones a partir de mieles.

Esta inestabilidad se considera regular e inherente a la industria alcoholera cubana, caracterizada por la inestable calidad de sus materias primas y las variaciones tecnológicas acordes al surtido de alcoholes para las cuales están concebidas (Almazán, 1968) planteó que los factores de mayor incidencia son el desempeño fermentativo y la eficiencia de la destilación y (Saura et al., 2003) establecieron que incluso dentro de una misma destilería los valores de DQO por ejemplo, pueden variar entre un día y otro de operación por lo que para cada fábrica puede tipificar de cierta forma la carga orgánica presente en la vinaza obtenida.

Tabla V. Principales parámetros físico-químicos de las vinazas empleadas procedentes de las destilerías Melanio Hernández y Jesús Rabí.

Parámetro	Composición	
	Melanio Hernández	Jesús Rabí
DQO, g.L-1	62,23	59,432
DBO, g.L-1	20,73	23,077
pH	4,99	4,11
Conductividad, $\mu\text{S.cm-1}$	15,83	11,31
Nitrógeno total, mg.L-1	840,38	1829

Fósforo digerido, mg.L-1	15,38	24,9
Calcio, mg.L-1	800	1300
Potasio, mg.L-1	1317	3700
Sodio, mg.L-1	170	380
Sulfatos, mg L-1	101,28	132,8

No obstante tanto la DQO como la DBO se encuentran en el mismo rango en ambas destilerías, aspecto que permitió emplearlas en los bloques experimentales como fuente de carbono y energía.

A pesar de los rangos observados en cuanto a la presencia de elementos esenciales para el crecimiento de la levadura como nitrógeno y fósforo, es necesario precisar que estos valores se consideran despreciables teniendo en cuenta que se ha reportado que solo un 40 y un 60 % del nitrógeno y fósforo respectivamente que existe en este sustrato se encuentra en forma asimilable para la especie *Candida utilis* (Serrano et al., 1986).

La variabilidad presente tanto en el contenido de nitrógeno como el de fósforo en ambos tipos de vinazas puede estar dado por la propia composición de los jugos extraídos de la caña de azúcar y los residuos e impurezas de su procesamiento dentro del ingenio, contaminantes bacterianos y levaduras salvajes durante la fermentación alcohólica (Ingledew, 1995), residuos de macromoléculas orgánicas complejas como péptidos y proteínas originadas durante los procesos de lisis celular y que no son asimilables por la levadura así como las diferencias en los esquemas de separación en la destilería; de ahí la necesidad de suplementar estos elementos a través de sales nutrientes.

Después del fósforo, el azufre es el mineral más importante para la levadura y su forma asimilable es a través del ión sulfato. Este ión lo requiere la levadura para la síntesis de los aminoácidos azufrados metionina y cisteína y para las vitaminas y coenzimas empleadas en el metabolismo por ejemplo: acetil-coenzima A.

Se ha planteado que este elemento debe ser añadido en aproximadamente un 0,3 a 0,5% del peso de la biomasa esperada en levaduras (Ingledew, 1995; Lyons et al., 2003). Si observamos los valores cuantificados de sulfato en las vinazas estudiadas se aprecia que este sustrato no contiene las cantidades suficientes de este ión pero cuando se suplementa el medio con la sal sulfato de amonio se logra cumplimentar estos requerimientos teniendo en cuenta los parámetros prefijados para realizar el balance (concentración de biomasa final y rendimiento teórico).

Algunos trabajos relacionados con crecimiento en levaduras han descrito que la presencia de otros minerales como el calcio pueden en algunas ocasiones estimular las velocidades de crecimiento (Ingledew, 1995; Lyons et al., 2003). En este estudio de caracterización de las vinazas fueron cuantificados el calcio, potasio y sodio como indicadores de microelementos en

este sustrato. Considerando que el aporte de estos se requiere en concentraciones entre 0,1 y 1,0 mM, los valores encontrados para estos iones en esta compleja materia prima superan las expectativas para los fines requeridos.

La especie *Candida utilis* es capaz de incorporar elementos presentes en el medio en grandes cantidades aun cuando no los precise para su metabolismo (Otero, 2008). Su habilidad para tolerar hábitats extremos ha sido reportada, pudiendo ser resistente a concentraciones salinas, característica que resalta en las vinazas y que se denota por sus altos niveles de conductividad con valores cercanos a $20^{\circ}\mu\text{S cm}^{-1}$.

Crecimiento a nivel de zaranda

Una buena fuente de nitrógeno debe poseer las propiedades de ser transportada de forma rápida hacia el interior celular, ser convertida rápidamente a glutamato o ión amonio y no debe ser tóxica.

La especie *Candida utilis* posee una gran versatilidad en cuanto al consumo de varios compuestos portadores de nitrógeno, ya sea en forma inorgánica como ión amonio (NH_4^+) o como ión nitrato (NO_3^-). Esta levadura también posee actividad ureasa, lo cual abre el espectro con respecto a la utilización de fuentes nitrogenadas de fácil asequibilidad por su precio y disponibilidad a nivel industrial.

El ión amonio es la fuente preferencial de nitrógeno para el cultivo de levaduras en estudios de laboratorio. Es empleado por todos los géneros de levaduras y usualmente se emplea como sales de sulfato y fosfato (Suomalainen, 1971). Cuando este ión está presente aún en cantidades mínimas, los mecanismos de regulación celulares se activan favoreciendo la incorporación preferencial del mismo y suplir los requerimientos en nitrógeno para las funciones vitales en la levadura.

Los datos ofrecidos en la Tabla VI muestran los valores medios obtenidos de ganancia neta en biomasa, pH final y por ciento de remoción de DQO para cada una de las corridas experimentales realizadas.

Estos experimentos hicieron evidente la capacidad de asimilación de urea por esta especie, con ganancias netas en biomasa similares con respecto a la suplementación con sulfato de amonio y muy cercana a la biomasa esperada para la cual se realizó el balance de materiales.

En fermentaciones discontinuas, la composición de la población celular se ajusta continuamente a la composición cambiante del medio, y por tanto el estado inicial del inóculo y los métodos empleados para determinar la concentración de la biomasa no siempre brindan una información fidedigna sobre el estado fisiológico de las células. En estos experimentos las mediciones de peso seco para determinar concentración másica resultan las más adecuadas para los cálculos de parámetros fermentativos, pero realmente no discriminan entre células metabólicamente

activas (en estado de replicación o no) y células muertas.

Tabla VI. Principales indicadores de crecimiento evaluados para *Candida utilis* en medio vinaza-sales en condiciones de zaranda.

Réplica	Aporte de N en balance		Indicadores evaluados		
	Sulfato de amonio (%)	Urea (%)	pH final	GB (gL-1)	% Remoción DQO
1	0	1	5,95	7,93	43,11
	0,25	0,75	5,50	7,74	39,07
	0,75	0,25	4,72	7,68	32,87
	0	1	6,18	7,76	33,88
	1	0	4,74	7,91	37,28
	1	0	4,65	7,89	34,25
	0,5	0,5	5,41	7,61	34,95
	0,5	0,5	5,23	7,63	35,43
2	0	1	5,86	7,89	39,47
	0,25	0,75	5,49	7,47	38,51
	0,75	0,25	4,86	7,52	36,19
	0	1	6,00	7,99	41,41
	1	0	4,74	7,91	36,92
	1	0	4,59	7,93	39,22
	0,5	0,5	5,20	7,20	34,48
	0,5	0,5	5,23	7,29	34,95

Se ha reportado que para algunas especies de levadura, para una efectiva utilización de esta fuente de nitrógeno orgánica pudiera requerirse la presencia de biotina u otros factores de crecimiento que normalmente están presentes en la miel, pero en la tecnología a partir de vinazas esta suplementación se realiza con el estimulador de crecimiento QZ-350 en concentraciones de 0,03 g.L-1 y que fueron añadidas en iguales cantidades en el diseño experimental para mantener las mismas condiciones de la industria.

En relación al pH, este representa la acidez o alcalinidad de una solución acuosa y su control es de vital importancia para el desarrollo exitoso de cualquier fermentación, ya sea para favorecer una actividad enzimática óptima como para limitar los contaminantes bacterianos que por lo general proliferan en niveles cercanos o superiores a la neutralidad (≥ 7).

El transporte de la urea ocurre mediante dos sistemas diferentes relacionados con la concentración de la misma en el medio, y es desdoblada a dos moléculas de amoníaco y una molécula de anhídrido carbónico por la enzima hidrolítica ureasa que cataliza fácilmente la reacción de descomposición de urea en presencia de agua.

En la Figura 2 se muestran los valores promedio de pH al inicio y al final de cada variante experimental. Resulta evidente la tendencia al incremento de este valor en presencia de mayores concentraciones de urea en el medio de cultivo, comportamiento que era de esperar por la formación de amoníaco durante la degradación de la urea por esta levadura.

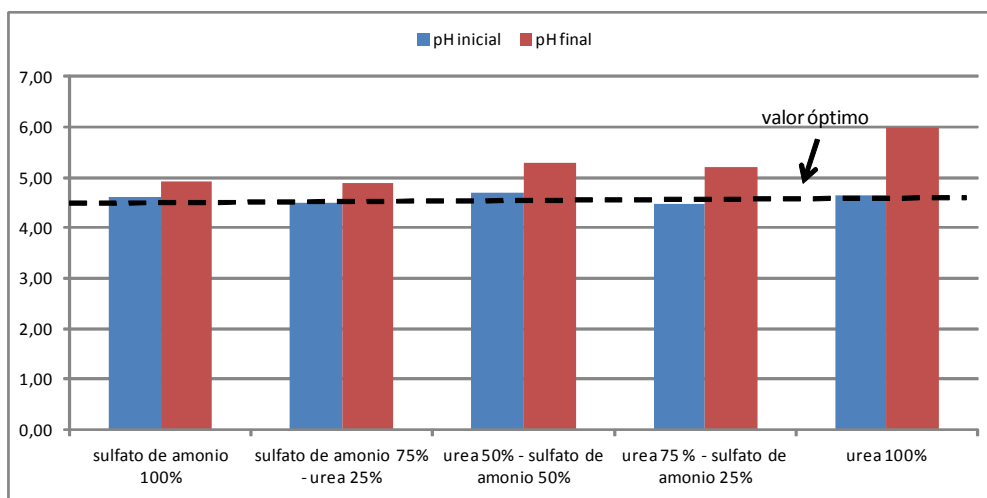


Figura 2. Valores de pH obtenidos en condiciones de zaranda

Esta tendencia al aumento del pH debe tenerse muy en cuenta pues puede resultar crítica en esta fermentación industrial, cuyas características (bajo condiciones de aerobiosis y sépticas) precisan de un control riguroso de contaminantes bacterianos.

Como puede observarse el pH de la variante suplementada con urea al 100 % se encontraba en valores alrededor de 6, mientras que el cultivo creciendo solo con sulfato y fosfato de amonio se mantuvo tamponado en valores cercanos a al inicial, resultados similares a los obtenidos por (García, 2014).

Este comportamiento a nivel industrial solo puede ser contrarrestado tecnológicamente mediante la adición de ácido sulfúrico, cuyo consumo también forma parte de los costos de producción y además su empleo elevado puede traer consigo un exceso indeseable del ión sulfato.

Tal y como fue reportado por (García, 2014) el comportamiento del grado de remoción de DQO fue superior cuando se suplementa el medio con 100 % de urea y los valores se mantienen en

los rangos informados para esta tecnología.

Ajuste de modelos experimentales

- Ganancia en biomasa (GB)

Con el objetivo de predecir los valores de GB cuando se emplean los componentes puros y sus combinaciones, se ajustó un modelo cuadrático de mezcla (Ec. 3). En la Tabla VII se informan los valores de los coeficientes del modelo y una estimación de los mismos por intervalo con un 95 % de confianza. La diferencia relativa calculada entre los coeficientes de los componentes puros es inferior al 1 %. Esto implica que los valores de GB no difieren cuando se sustituye completamente el sulfato de amonio por urea como fuente de nitrógeno.

$$GB = 7,89 \cdot A + 7,85 \cdot B - 0,96 \cdot AB$$

Ec. 3

Tabla VII. Estimados de los coeficientes del modelo para GB.

Componente	Estimado	Grado de libertad	Error Estándar	95% CI Inferior	95% CI Superior
A-Sulfato	7,89	1	0,042	7,79	8
B-Urea	7,85	1	0,042	7,75	7,96
AB	-0,96	1	0,19	-1,46	-0,46

Al realizar la prueba de ANOVA (Tabla VIII) para evaluar la significación del modelo (Ec. 3), los resultados de la misma permiten concluir que el modelo explica adecuadamente la relación existente entre la GB y los componentes de mezcla con un 5 % de significación ($P < 0,05$). El análisis por separado de la prueba de ANOVA para los componentes lineales (A, B) y la mezcla (AB) demuestra que no existen diferencias significativas con un 5 % de significación entre los efectos de los componentes lineales sobre la GB. Sin embargo se detecta una diferencia significativa del efecto del componente de mezcla (AB) con el mismo nivel de significación.

La falta de ajuste del modelo (Lack of Fit) fue no significativa y el coeficiente $R^2=0,83$ lo que implica una buena capacidad del modelo para predecir valores de GB no probados experimentalmente y que están incluidos dentro de la región de diseño.

Tabla VIII. Prueba de ANOVA para el modelo cuadrático de mezcla.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrada	Valor F	Prob > F
Modelo	0,093	2	0,047	12,42	0,0115 *
Mezcla lineal	1,76E+00	1	1,76E+00	0,47	0,5232
AB	0,091	1	0,091	24,37	0,0043 *
Residual	0,019	5	3,75E+00		
Falta de ajuste	4,26E+00	2	2,13E+00	0,44	0,6795
Error Puro	0,014	3	4,83E+00		
SumaTotal	0,11	7			

* Significativo con un 5 % de significación.

R-Squared = 0,8325

En la Figura 3 se muestra una representación gráfica del modelo cuadrático ajustado. Se observa que para valores de urea por encima del 50% aumenta la GB alcanzándose un máximo cuando se sustituye todo el sulfato de amonio por urea. Además se puede apreciar que este máximo es muy similar al obtenido cuando se emplea sulfato de amonio solamente.

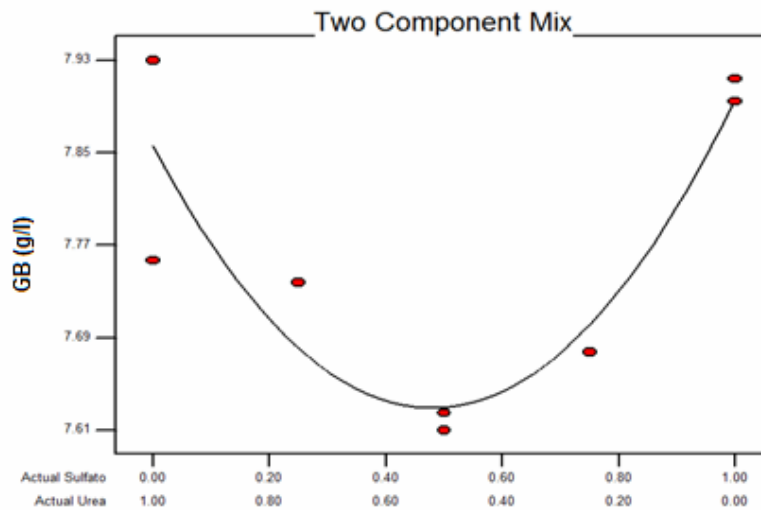


Figura 3. Modelo cuadrático de mezclas para GB

- Análisis del pH

El pH presenta un comportamiento lineal (Ec. 4). La Tabla IX muestra los coeficientes estimados del modelo y una estimación por intervalo al 95 % de confianza de los mismos. La sal que mayor influencia tiene sobre el pH es la urea y a medida que aumenta la inclusión de la misma se incrementa su valor.

$$\text{pH} = 4,61 \cdot A + 5,98 \cdot B$$

Ec. 4

Tabla IX. Estimados de los coeficientes del modelo para el pH

Componente	Estimado	Grado de libertad	Error Estándar	95% CI Inferior	95% CI Superior
A-Sulfato	4,61	1	0,089	4,39	4,82
B-Urea	5,98	1	0,089	5,76	6,2

Los resultados de la prueba de ANOVA (Tabla X) demuestran que el modelo es significativo con un 5 % de significación ($P < 0,05$), por lo que el modelo lineal (Ec. 4) explica adecuadamente la relación existente entre el pH y los componentes de mezcla.

La falta de ajuste del modelo (Lack of Fit) fue no significativa y el coeficiente $R^2=0,94$ por lo que el modelo propuesto presenta una buena capacidad de predicción para los valores de pH en otros puntos fuera de la matriz de diseño.

Tabla X. Prueba de ANOVA para el modelo lineal de mezcla.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrada	Valor F	Prob > F
Modelo	2,12	1	2,12	94,06	0,0001 *
Mezcla lineal	2,12	1	2,12	94,06	0,0001 *
Residual	0,14	6	0,023		
Falta de ajuste	0,097	3	3,20E-02	2,53	0,2326
Error Puro	3,80E-02	3	1,30E-02		
Suma total	2,26	7			

*Significativo con un 5 % de significación.

R-Squared = 0,9400

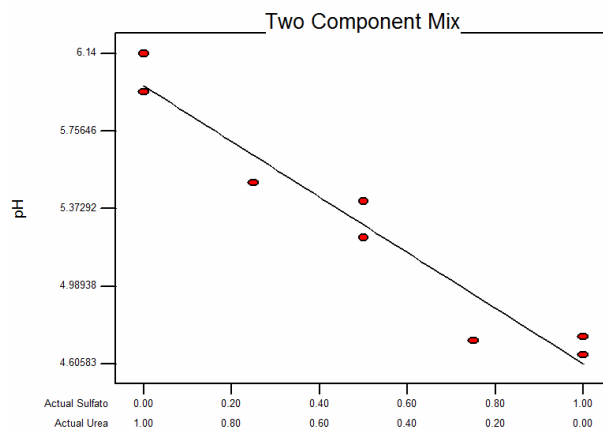


Figura 4. Modelo lineal de mezclas para el pH

- Remoción de DQO

Los valores de por ciento de remoción se describen mediante un modelo cuadrático al igual que la GB (Ec. 5). Este comportamiento es esperado teniendo en cuenta la correlación directa existente entre estas dos variables.

Hay una diferencia relativa del 18 % entre los coeficientes estimados para los componentes puros, demostrándose que con la sustitución del sulfato de amonio totalmente por la urea se obtiene un 16 % o más de por ciento de remoción.

La Tabla XI muestra la estimación por intervalo al 95 % de confianza del efecto de los componentes.

$$\% \text{ Remoción} = 35,49 \cdot A + 43,29 \cdot B - 18,59 \cdot AB$$

Ec. 5

Tabla XI. Estimados de los coeficientes del modelo para el por ciento de remoción.

Componente	Estimado	Grado de libertad	Error Estándar	95% CI Inferior	95% CI Superior
A-Sulfato	35,49	1	0,9	33,17	37,8
B-Urea	43,29	1	0,9	40,98	45,61
AB	-18,59	1	4,18	-29,33	-7,86

La prueba de ANOVA (Tabla XII) para el modelo fue significativa con un 95 % de confianza ($P < 0,05$), por lo que el modelo cuadrático (Ec. 5) explica adecuadamente la relación existente entre el por ciento de remoción y los componentes de la mezcla. La descomposición de la variabilidad explicada por el modelo en sus componentes lineales y de mezcla refleja que existen diferencias significativas entre los efectos de los componentes puros sobre la remoción de DQO con un 5 % de significación. También se observan diferencias significativas en el componente de mezcla (AB).

El modelo presenta una falta de ajuste (Lack of Fit) no significativa y un coeficiente $R^2 = 0,92$ por lo que posee una buena capacidad para predecir los valores de por ciento de remoción en los diferentes puntos de la región experimental.

Tabla XII. Prueba de ANOVA para el modelo de mezcla

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrada	Valor F	Prob > F
Modelo	102,96	2	51,48	29,65	0,0017 *
Mezcla lineal	68,52	1	68,52	39,46	0,0015 *
AB	34,44	1	34,44	19,83	0,0067 *
Residual	8,68	5	1,74		
Falta de ajuste	3,00	2	1,50	0,79	0,5299
Error Puro	5,69	3	1,90		
SumaTotal	111,65	7			

*Significativo con un 5 % de significación.

R-Squared = 0,9222

La Figura 5 muestra la gráfica del modelo cuadrático ajustado a los datos experimentales. Para valores de por ciento de urea por encima del 50 % aumenta el por ciento de remoción alcanzándose un máximo cuando se sustituye todo el sulfato de amonio por urea. Además se aprecia una diferencia importante entre los valores de remoción de DQO cuando se emplea solo urea como fuente de nitrógeno con respecto a cuando se emplea sulfato de amonio solamente.

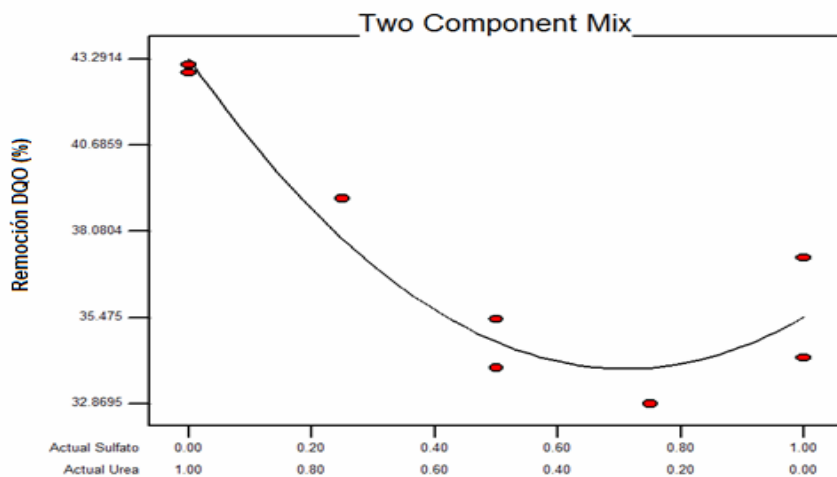


Figura 5. Modelo cuadrático de mezclas para el por ciento de remoción DQO.

En la réplica del experimento los parámetros estudiados tuvieron el mismo comportamiento que el obtenido en el diseño experimental inicial.

A partir de los resultados estadísticos se decidió probar a nivel de microplanta la combinación 100 % de urea por ser la única que no dio diferencia significativa en cuanto al crecimiento de biomasa, parámetro más importante en este experimento.

Estudios a nivel de microplanta

A partir de los resultados obtenidos en el diseño experimental a nivel de laboratorio, se decidió replicar a una escala superior (2,5 L) los valores de las variables respuesta para la condición de mejor comportamiento (urea 100 %), evaluar la velocidad específica de crecimiento máxima y calcular los consumos de ácido sulfúrico necesarios para mantener el pH en $4,5 \pm 0,5$. Como control fue evaluada la condición de suministro de sulfato de amonio al 100 %, variante tecnológica actual.

En la Tabla XIII se muestran los valores promedios de los parámetros calculados para esta etapa, tomando los resultados de dos corridas experimentales bajo régimen continuo, así como el consumo total de ácido sulfúrico a la hora final (Hora 24).

Tabla XIII. Principales parámetros cinéticos y consumo de H₂SO₄ evaluados en 2,5^oL de medio vinaza - sales suplementado con urea o sulfato de amonio.

Parámetro	100 % sulfato	100% urea
Ganancia neta de biomasa (g.L-1)	10,44	9,89
Velocidad específica de crecimiento máxima $\mu_{\text{máx}}$ (h-1)	0,217	0,211
% de remoción DQO	42,742	35,498
Consumo de H ₂ SO ₄ (ml)	15	21

La determinación de la velocidad específica de crecimiento máxima ($\mu_{\text{máx}}$) fue calculada para la etapa inicial del discontinuo, obteniéndose valores de este parámetro de 0,211 y 0,217 h⁻¹ para suplementos totales con urea y sulfato de amonio respectivamente. Estos valores muestran la factibilidad industrial del empleo de la urea, cuya suplementación no afecta la velocidad con que se incrementa la masa celular durante la fase exponencial del cultivo con respecto al control. Este hecho reviste especial importancia durante las etapas de propagación industrial en pre fermentadores y durante la etapa de discontinuo en fermentadores al mantenerse los ciclos de los cultivos.

En la Figura 6 se muestra la curva de crecimiento para las variantes estudiadas. Como puede apreciarse el comportamiento obtenido para ambas corrobora que puede emplearse urea como fuente de nitrógeno sustituyendo totalmente el sulfato de amonio. La fase de crecimiento exponencial tuvo una duración de aproximadamente 10 h donde comenzó la fase estacionaria y la alimentación continua del sustrato. Las ganancias de biomasa obtenidas ratificaron los resultados alcanzados a nivel de zaranda.

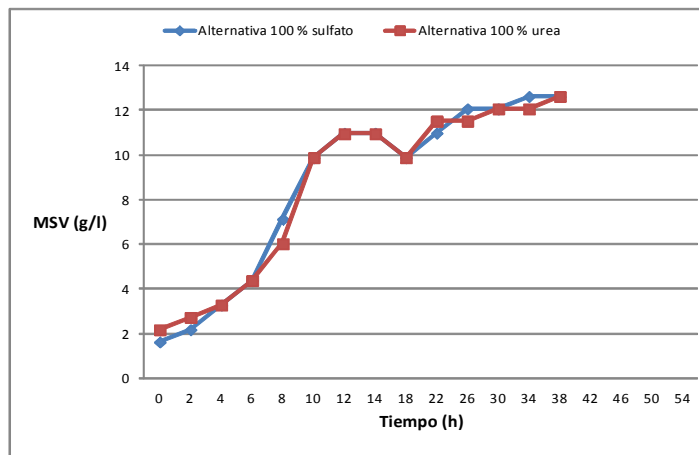


Figura 6. Curvas de crecimiento para las alternativas estudiadas en microplanta.

La técnica de determinación de MSV no discrimina entre la biomasa generada por el microorganismo de interés y por otros posibles microorganismos contaminantes. El medio de fermentación con vinazas, no fue previamente esterilizado para mantener condiciones similares a las industriales, por lo que existía la potencialidad de su contaminación.

En la Figura 7 se muestran los resultados de la siembra en medio diferencial WLN-Agar como vía para corroborar las condiciones en que se encontraba el cultivo al final de la etapa discontinua y de la continua. Se comprobó mediante la morfología observada en las colonias obtenidas que hasta el final del experimento se mantuvo un cultivo puro de la cepa de *Candida utilis* inoculada. Los valores obtenidos de conteos para cada variante fueron de 512×10^7 células/ml-1 y 436×10^7 células/ml-1 para el fermentador 1 y 2 respectivamente.

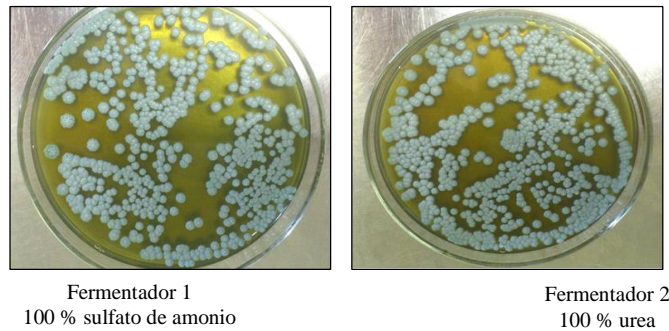


Figura 7. Crecimiento celular en placas Petri del cultivo al final de la etapa continua. (dilución 10-6)

Como muestra la Tabla XIII se aprecia un mayor consumo total de solución de ácido sulfúrico 2 N bajo el esquema de suplementación con un 100 % de urea (21 ml) con respecto al volumen consumido en fermentadores con sulfato de amonio, que resultó de 15 ml.

Estos valores suponen un índice de consumo de 220 kg de ácido sulfúrico concentrado por tonelada de levadura para el caso de la urea contra 150 kg del ácido para fermentaciones con sulfato de amonio.

Res. 04 Análisis económico preliminar de la variante propuesta

En el análisis económico no se tomó en consideración la incidencia adicional en la disminución del costo de producción asociado a los menores niveles de manipulación y trasiego relacionados con el uso de la urea, dado su mayor contenido de nitrógeno. Solamente se modificaron los índices de urea, ácido sulfúrico e hidróxido de sodio para la variante 100 % de urea.

En la Tabla XIV se muestra el desglose del costo de las materias primas y materiales auxiliares para ambas variantes. A partir de la ficha de costo de producción de levadura torula de vinaza establecida para la tecnología convencional (100 % de sulfato de amonio), se obtuvo que a pesar de existir un aumento en 1,5 veces del consumo de ácido sulfúrico al suplementar únicamente

urea (Tabla XIII), el costo de las materias primas es 49,9% menor que para la variante tradicional Como puede observarse en la Figura 8 el sulfato de amonio representa un 48 % del costo de las materias primas y sin embargo cuando se sustituye por urea, esta constituye un 23 %.

Tabla XIV. Desglose de gastos materiales para 1 t de levadura para ambas alternativas estudiadas

Insumos	Unidad de medida	Sulfato 100%		Urea 100%	
		Índice de consumo	Costo* (CUP/ton)	Índice de consumo	Costo* (CUP/ton)
Miel final	t	0,5	33,5	0,5	33,5
Vinazas	t	70	1,26	70	1,26
Sulfato de amonio	t	0,38	328,3	-	-
Urea	t	-	-	0,169	103,23
Fosfato de amonio	t	0,083	198,32	0,083	198,32
Antiespumante	t	0,015	38,57	0,015	38,57
Ácido sulfúrico	t	0,150	31,13	0,22	45,65
Ácido nítrico *	t	0,005	2,13	0,005	2,13
Hidróxido de sodio	t	0,069	22,46	0,019	6,09
Sacos de papel	MU	0,042	10,92	0,042	10,92
Nutriente QZ-350	t	0,003	12,48	0,004	12,48
Biofloruro	t	0,002	5,93	0,002	5,93
Costo unitario materias primas			684,99		458,19

Índice de consumo x precio (AZCUBA, 2014)

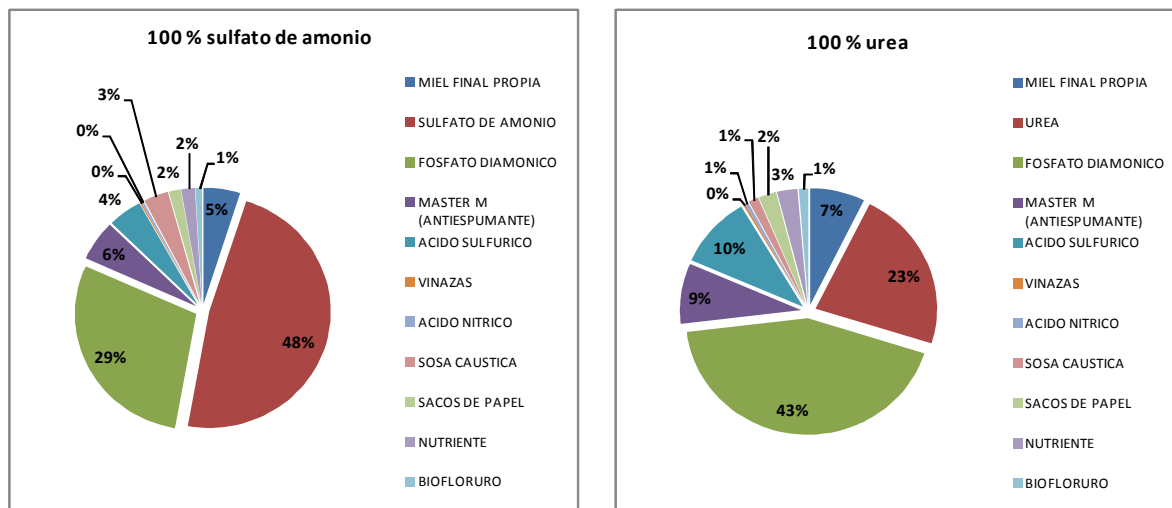


Figura 8. Desglose de los costos de materias primas para cada variante estudiada.

Los resultados a nivel de microplanta permitieron ratificar el índice de consumo de 0,38 ton de sulfato de amonio por tonelada de levadura torula para el caso de la variante establecida industrialmente en Cuba (sulfato de amonio), así como un nuevo índice de consumo de 0,169 ton de urea/ ton levadura, 0,22 ton de ácido sulfúrico/ton levadura y 0,018 t de hidróxido de sodio/ton levadura para la variante que se propone.

En cuanto a los costos de producción totales cuando se emplea sulfato de amonio los mismos tienen un valor de 993,89 CUP/ton, disminuyendo cuando se sustituye por urea a 767,08 (29,5 % inferior).

Para los precios fijados (207,12 MT/ton de ácido sulfúrico, 610,87 MT/ton de urea y 863,94 MT/ton de sulfato de amonio) (fichas de costo AZCUBA) y valorando el índice de consumo obtenido para la urea, el ácido sulfúrico y el hidróxido de sodio por tonelada de levadura, el ahorro por sustitución de la materia prima aportadora de nitrógeno es de 226,81 CUP/ ton de levadura. Si consideramos como ejemplo la producción de una planta de 15 t, trabajando 240 días/año, el ahorro anual sería de 816 300 MT.

Es necesario tener en cuenta para cualquier implementación industrial de esta sal alguna de sus propiedades físicas de especial importancia para un adecuado trasiego y manipulación, así como para la elección de los materiales de construcción para las áreas de preparación de las mismas.

Dentro de ellas citamos:

- Humedad crítica relativa (a 30°C): 73%
- Corrosiva sobre acero al carbón, poco al aluminio, zinc y cobre. No lo es al vidrio y aceros especiales
- Acidez 0,18 pKa
- Solubilidad en agua: 108 g/100 ml (20°C)

Conclusiones

- La caracterización de las vinazas utilizadas como fuente de carbono y energía permitió corroborar que esta es una materia prima de alta variabilidad en cuanto a sus parámetros físico-químicos.
- La *Candida utilis* responde favorablemente desde el punto de vista fisiológico en presencia de urea en un medio de cultivo con vinazas de destilerías con valores de ganancia de biomasa de 7,89 g L⁻¹ con niveles de remoción de DQO de 41,43 %.
- En microplanta el uso de la urea permite alcanzar una velocidad específica de crecimiento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de 0,211 h⁻¹ similar a la alcanzada cuando se emplea un medio a partir de sulfato de amonio (0,217 h⁻¹).
- Los niveles de consumo de H₂SO₄ entre ambos medios de fermentación indican que con el uso de la urea, los volúmenes demandados son 1,5 veces mayores a los requeridos cuando se emplea el sulfato de amonio.

- Bajo las condiciones cubanas de precios de importación de materias primas (sulfato de amonio, urea, hidróxido de sodio y ácido sulfúrico) se aprecia, con este estudio, una disminución del costo de materias primas en un 49,9%.

Bibliografía

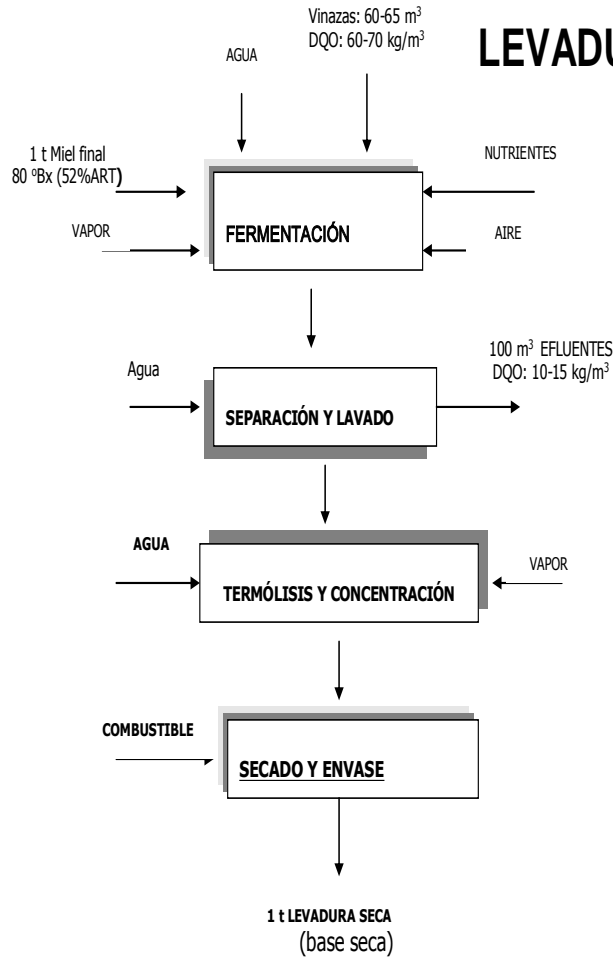
- Almazán, O., 1968. Utilización de los mostos residuales para la producción de levadura forrajera (torula). Revista ICIDCA Sobre los derivados del azúcar. 2.
- APHA, A., WPCF, 2000. Métodos normalizados para el examen de las aguas residuales., Washington.
- APHA, A., WPCF. , 1980. Métodos normalizados para el examen de las aguas residuales., Washington.
- AZCUBA, 2014. Ficha Técnica La Habana.
- García, R., 2014. Effects of urea supplementatation on Candida utilis biomass production from distillery waste. Waste and biomass valorization. 5, 119-124.
- ICIDCA, 1968. Manual de procedimiento de operación del Departamento de Bioingeniería.PNO-EQ.-04., La Habana.
- ICIDCA, 1975. Libro de técnicas analíticas de ICIDCA.PNO-B-EN-15. ICIDCA, La Habana.
- ICIDCA, 1978. Revista cuatrimestral publicada por el Instituto de Investigaciones de los Derivados de la caña de Azúcar. . XII.
- ICIDCA, 2002. Manual de los derivados de la caña de azúcar., La Habana.
- ICIDCA, 2008. Compendio de los Derivados de la Caña de Azúcar. Instituto de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), ISBN., La Habana.
- Ingledew, W.M., 1995. The biochemistry of alcohol production. Capitulo 7. In: T. P. Lyons, D.R.K.y.J.E.M. (Ed.), Ethanol Production by Fermentation and Distillation. Nottingham University Press., Nottingham, pp. 55-79.
- Lyons, T.P., Kelsall, D.R., Murtagh, J.E., 2003. The Alcohol textbook. A reference for the beverage fuel and industrial alochol industries. Nottingham University Press.
- Norma Cubana, 2009. NC 715. Miel final (melaza)-Especificaciones.
- Obaya, C., 2004. Desarrollo de una tecnología de tratamiento de las aguas residuales de las destilerías de alcohol., ICIDCA., La Habana.
- Otero, M.A., 2008. Las levaduras y sus productos derivados como ingredientes en la industria alimentaria. Universidad Nacional de Quilmes., La Habana.

- Pérez, I., 2012. Informe de la actualización del estado del arte de la producción de la levadura forrajera y del empleo de las vinazas de destilerías., La Habana.
- Pérez, I., Ribas, M., García, R., Ibañez, M., Moré, N., Saura, G., Martínez, J., 2014. Informe preliminar de la optimización del proceso fermentativo usando vinazas de destilería
- sustitución del sulfato de amonio por urea en la propagación de candida utilis. La Habana.
- Saura, G., 2000. VI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados. In: ICIDCA (Ed.), La Habana.
- Saura, G., 2002. Análisis operacional del complejo destilería – planta de levadura en el CAI Antonio Guiteras. Parte II. ICIDCA XXXVI.
- Saura, G., Otero, M.A., Martínez, J.A., Fundora, N., Reyes, E., Vasallo, M.C., Almazán, O., 2003. Propagation of yeast biomass from distillery wastes. Process and product evaluation. International Sugar Journal 105, 36-39.
- Serrano, P., Biart, J., Conde, J., 1986. Mieles cubanas. Características principales”. Capitulo VI En La industria de los derivados de la caña de azúcar. Parte II Materias primas., La Habana.
- Suomalainen, H., 1971. Yeast nutrition and solute uptake. En The Yeast. Physiology and Biochemistry of Yeasts. A. H. Rose y J. S. Harrison. Academic Press., Nueva York.
- Vázquez, M., Cuellar, H., García, R., Díaz, M., Reyes, A., González, M., Méndez, J., Guardia, M., Ibañez, M., 2012. Libro de manual de técnicas analíticas para las destilerías. Editorial ICIDCA, La Habana.



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

LEVADURA FORRAJERA



Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:

4. Información financiera preliminar

Fuente de Fondos	FFPG
Presupuesto Total	32 000.00 USD
Presupuesto (2015)	21 395.00 USD
Ejecución (2015)	6 853.80 USD (32.03 %)
Falta por ejecutar	21 946.20 USD

5. Oportunidades para difundir información

Actividades de divulgación de resultados:

Las publicaciones y artículos de difusión están en redacción.

6. Lecciones aprendidas

- Deben ser previstos los factores de riesgo que puedan obstaculizar el desempeño del Proyecto y disponer de estrategias alternativas de fácil alcance para los participantes comprometidos. Ej. Disponibilidad para destinar los recursos y facilidades por parte de las entidades participantes en caso de ocurrir atrasos en otorgamiento de fondos previstos y de esta forma no detener la ejecución de acciones.
- 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 transportación, dietas, etc., así como la redistribución de recursos ante situaciones de riesgo.
- 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.

7. Líneas de trabajo para el mejoramiento del desempeño

- Explorar y poner en acción estrategias alternativas 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.
- Información parcial del avance en la ejecución del Proyecto ante directivos de la Entidad Nacional Ejecutora y Organismo Superior (Grupo Empresarial AZCUBA).

Preparado por

Nombre: Ing. Gustavo Saura Laria

Firma:



Cargo: Jefe de Proyecto

Fecha: 13/02/2016

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