

Influencia de la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* L. en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*

Influence of the concentration of total reducing sugars of “shell” of *Coffea Arabica* L. in the production of single cell protein from *Candida utilis* var. *major*

Luis Eduardo Rodríguez Pérez

Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto-PERÚ
riojanito2010@hotmail.com

Carlos León Torres, Carlos Nomberto Rodríguez.

Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-PERÚ

Cecilia Betzabet Bardales Vásquez.

Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-PERÚ

Resumen

Se determinó la influencia de la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* L. var. *catimor* en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*. Se diseñó un biorreactor tipo tanque agitado de 16 cm de altura, con turbina Rushton. El inóculo fue preparado a partir de una cepa de *Candida utilis* var. *major*, el medio de cultivo fue elaborado a partir de diluciones de azúcares reductores totales (ART) extraídos de “cáscara” de *Coffea arabica* L. var. *catimor* desde 5 hasta 35 g/L en intervalos de cada 5 unidades. El bioproceso de fermentación aeróbica se llevó a cabo a 25 +/- 3°C; a pH de 5,0 - 5,5 y durante un periodo de 50 horas. Se encontró que la biomasa y la productividad aumentan progresivamente desde 1 hasta 14 g/L y desde 0,02 hasta 0,28 g/L.h respectivamente, tal como se incrementa la concentración de ART de cáscara de *Coffea arabica* var. *catimor*. A la concentración de 20 g/L de ART, se alcanzó el rendimiento máximo (55,19 %) de *Candida utilis* var. *major*, muy cercano al rendimiento teórico de 56,79 %. Se concluye, que el incremento de la concentración de azúcares reductores de cáscara de *Coffea arabica* var. *catimor* influye significativamente aumentado la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*.

Palabras clave: Proteína Unicelular, Azúcares Reductores Totales, *Candida utilis*, *Coffea arabica*, Bioproceso.

Abstract

The influence of the concentration decided of sugar reductors totals of “shell” of *Coffea arabica* L. var. *catimor* in the production of single-cell protein of *Candida utilis* var. *major*. A biorreactor was designed type waved tank of 16 cm of height, with turbine Rushton. The preparation of the inoculo was carried out starting from *Candida utilis* var. *major*, the way of culture was elaborated from dilutions of sugar reductors totals (ART) extracted from “shell” of *Coffea arabica* var. *catimor* from 5 up to 35 g/L in intervals of every 5 units. The bio process of aerobic fermentation was carried out to 25 +/- 3°C; to pH of 5,0 - 5,5 and during a period of 50 hours. One thought that the biomass and the productivity increase progressively from 1 up to 14 g/L and from 0,02 up to 0,28 g/L.h respectively, as increases the concentration of ART of shell of *Coffea arabica* var. *catimor*. To the concentration of 20 g/L of ART, there was reached the maximum performance (55,19 %) of *Candida utilis* var. *major*, very near to the theoretical performance of 56,79 %. In conclusion, the increase of the concentration of sugar reductors totals of shell of *Coffea arabica* var. *catimor* influences significantly increased the production of single-cell protein of *Candida utilis* var. *major*.

Key words: Single-cell protein, total reducing sugars, *Candida utilis*, *Coffea arabica*, Bioprocess.

Introducción

Durante las últimas décadas se ha presentado un incremento de la población a nivel mundial; a esto se acompaña el patrón decreciente de la producción agrícola lo que ha originado un importante déficit de alimentos a nivel mundial, sobre todo en aquellos en vías de desarrollo, especialmente de Latinoamérica. Se estima que cada año, más 12 millones de personas mueren de inanición y por enfermedades relacionadas con la malnutrición, causadas

principalmente por el bajo y deficiente consumo de alimentos de construcción como las proteínas (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Esta deficiencia de proteínas en el consumo humano pone cierto apremio en el incremento de la productividad agrícola. Pero esto, requiere de la modernización de la agricultura, lo cual, se ha convertido en una misión casi imposible por la falta de recursos económicos para implementar

técnicas apropiadas, el empobrecimiento gradual del suelo, fenómenos climatológicos adversos y escasez de agua (Box, 1993).

En ese sentido, en los últimos años, en el mundo han surgido diversas propuestas y técnicas para producir proteínas de consumo humano y animal por métodos no convencionales. Una de esas vías más prometedoras es, incrementar la disponibilidad de proteínas de origen microbiano o unicelulares mediante la fermentación de residuos agroindustriales (Scragg, 1996).

Existen tres ventajas para la producción de proteína unicelular: el rápido crecimiento de los microorganismos, la alta eficiencia o productividad alimenticia y el bajo costo de la materia prima o sustrato (Lifthield, 1986). Las dos primeras están en relación directa con el corto tiempo de generación de 20 minutos.

Respecto al sustrato empleado, en un inicio se centró en el uso de hidrocarburos y otros derivados del petróleo como metanol y etanol; recientemente, el interés se ha dirigido hacia recursos renovables como residuos agrícolas y subproductos industriales (García, Quintero & López, 1993). La factibilidad económica de producir proteína unicelular depende básicamente del uso eficiente de un sustrato de bajo costo, aprovechado por el microorganismo, el cual, debe proceder de actividades agroindustriales propias de la zona en donde se desea producir la proteína unicelular, por ejemplo, zonas de producción de "café", esto logra que el sustrato empleado sea barato y que su proceso contribuya a limpiar el medio ambiente de los desechos agroindustriales; lo cual hace de esta actividad una alternativa económica, social y ecológicamente viable. (Carter, 1996).

En Cuba, Brasil, Colombia y México en los que la industria azucarera es muy desarrollada, se han aplicado tecnologías para producir proteína unicelular empleando como sustrato melaza y bagazo con resultados exitosos en ambos casos, la misma, que puede ser reemplazado por la cáscara de "café"; que posee un mucílago que contiene alrededor de 30 % de azúcares reductores, para la preparación de los abonos orgánicos fermentados, la cáscara de "café" se constituye en una excelente fuente de celulosa, lignina, sílice y cenizas (Restrepo, 1978).

La cáscara del "café" se encuentra constituida por la cascarilla, la pulpa y el mucílago que envuelven a la semilla (grano), que en su conjunto están constituidos por un 42,4 % de azúcares reductores totales, los que se pierden al ser eliminados durante el despulpado y que estos productos y subproductos, constituyen una fuente grave de contaminación y problemas ambientales en los países productores de "café". Por ese motivo, desde mediados del siglo pasado se ha tratado de inventar métodos de utilizarlos como materia prima para producción de bebidas, vinagre, biogás, cafeína, pectinas, enzimas pécticas, proteína y abono (Bresanni, 2005).

Las levaduras comúnmente más utilizadas son *Saccharomyces cereviceae* y *Candida utilis*, sin embargo, la mayor experiencia en la producción de proteína unicelular se ha dado con *C. utilis* conocida por la mayoría de los investigadores como "torula" y cuya composición química es aproximadamente: 9,0 % de nitrógeno, 55 % de proteína, 7 % de grasas, 5 % de fibra, 8,0 % de cenizas, además, contiene elevada cantidad de lisina y vitaminas del complejo B (Marchand, 1997)

Respecto a *C. utilis*, desarrolla

rapidamente en un medio compuesto por melaza, puesto que tiene la capacidad de asimilar una amplia variedad de sustratos carbonados; sin embargo, durante la producción de biomasa de *C. utilis* es necesario controlar cuidadosamente diversos factores como temperatura, pH, aireación, formación de espuma y en especial, la concentración del tipo de sustrato que se emplea (Kirk & Othmer, 1998).

En una investigación de producción a nivel industrial de cultivo de *C. utilis*, empleando melaza diluida al 2 %, se han obtenido rendimientos de 45 % de levadura y 92 % de masa seca, teniendo en cuenta un rendimiento teórico de 56,7 %, comparado con un 55 % en rendimiento real que se obtuvo al trabajar con una concentración de 15 g/L de ART de melaza (León, 2005).

En ese sentido, cuando se toma en cuenta, que la información sobre la relación rendimiento-concentración del sustrato, es de vital importancia, ya que desde el punto de vista técnico-económico, las ofertas de instalaciones industriales a disposición se sitúa ante la alternativa de tecnologías de fermentación a altas y bajas concentraciones y además, que la oferta y demanda de proteína unicelular destinada al consumo humano y animal en las últimas décadas, estuvo liderada por la levadura *C. utilis* tanto en Estados Unidos, La Unión Europea y Asia, es necesario realizar trabajos de investigación orientados a determinar la influencia de la concentración de los azúcares reductores totales extraídos de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major* "torula" en un biorreactor tipo tanque agitado.

Materiales y métodos

Se usó una cepa liofilizada de *Candida utilis* var. *major*, obtenido de la Colección Española de Cultivos Tipo (C.E.C.T) 1430. Y los azúcares reductores totales fueron extraídos de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*, proveniente del Distrito de Rioja, Departamento de San Martín-Perú.

Reactivación de la Cepa: La cepa se reactivó siguiendo el protocolo según Bailón en Caldo Sabouraud (Manual Difco, 1984).

Tratamiento de los sustratos:

Extracción de los azúcares reductores totales de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* y preparación del caldo fermentativo: La extracción de los azúcares reductores totales de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* se llevó a cabo utilizando la técnica de extracción por acción físico-química con agua por ser una técnica adecuada en la obtención de estos azúcares para el caso de este residuo agrícola (Bardales *et al.*, 2009), luego, se determinó la concentración de "ART" azúcares reductores totales por el método de Folin-Wu (Folin, O y H, Wu. 1920). Dicha concentración fue diluida con agua destilada estéril preparándose las concentraciones siguientes: 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g; las mismas que constituyeron el caldo fermentativo. A este caldo fermentativo, se le añadió 0,70 g de sulfato de amonio q.p (Bailón, 2001) y posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 45 minutos.

Preparación del inóculo: El inóculo inicial de levadura tuvo una concentración celular de 1×10^6 cel/mL (Gómez, 1999).

Acondicionamiento de los biorreactores: Se instalaron 9 biorreactores de 1 L. de capacidad; con 16 cm de altura, 10 cm de diámetro y 10 cm de base, adaptándoseles una tapa a presión de jebe microporoso de 2 pulgadas. Cada reactor

fue equipado con un sistema de aireación y agitación previamente desinfectado en la cámara UV durante tres tiempos de 1 hora cada una, con un descanso de 5 minutos entre ellos.

Proceso de producción de biomasa:

Fermentación: En cada biorreactor se colocó 630 mL del caldo fermentativo a las concentraciones de estudio (5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g/L de ART), la fuente nitrogenada (sulfato de amonio al 1 %) y 70 mL del inóculo previamente preparado.

El proceso se llevó a cabo a un pH entre 5,0 – 5,5. El proceso de fermentación se llevó a cabo durante un periodo de 50 horas a una temperatura de 25 °C +/- 3°C

Repetiéndose posteriormente 2 veces más (Torres, 1995; León, 2005).

Determinación de la Influencia de la concentración de los azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*.

Determinación del peso seco de la biomasa: La producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major* se llevó a cabo durante 50 horas. Transcurrido dicho tiempo se siguió el método gravimétrico. (Bailón, 2001; León, 2005).

Cuantificación de los azúcares reductores totales residuales: Se determinó la concentración residual de azúcares reductores totales mediante el método de Folin - Wu (Folin & Wu, 1920).

Determinación del rendimiento en base a azúcares reductores totales suministrados (Y x/s) Se determinó según (Hebert, 1999).

Donde: X_o : Biomasa inicial (g/L) X_F : Biomasa final (g/L) S_o : Azúcares reductores totales inicial (g/L) S_F : Azúcares reductores

totales final (g/L)

Cálculo de la productividad (P g/L.h)

Se determinó según (Hebert, 1999).

Donde: X : Biomasa neta producida (g/L) T : Tiempo de fermentación en horas (h)

X_o : Biomasa inicial (g/L). X_F : Biomasa final (g/L)

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos de las variables biomasa, rendimiento y productividad fueron evaluados mediante estimación de medidas de tendencia central y dispersión; comparación de medias según el método de “t”, correlación y regresión lineal, cuadrática, logarítmica y exponencial (Freese, 1988).

Resultados

Los resultados del trabajo de investigación respecto a la influencia de la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*, se muestra en las siguientes tablas y figuras.

En la tabla 1 y 2 se hace notar los valores promedio originales y estimados de biomasa neta producida, rendimiento y productividad, asimismo, se indica la relación de las variables (correlación y regresión) de la concentración de azúcares reductores totales de la “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* con la biomasa, el rendimiento y la productividad de *Candida utilis* var. *major*, lo cual demuestra la dependencia de las variables biomasa y productividad y la no dependencia del rendimiento con respecto a la concentración de azúcares reductores totales respectivamente.

La Figura 1 muestra la relación entre la concentración de azúcares reductores

totales suministrados de la “cáscara” de *Coffea arabica* y la biomasa neta producida de *Candida utilis* var. *major*. Observándose que existe dependencia o regresión lineal, cuadrática, logarítmica y exponencial en dichas variables. La biomasa aumenta progresivamente desde 0,20 g/L hasta 14,00g/L tal como se aumenta la concentración de azúcares reductores totales extraídos de la “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor*.

La Figura 2 muestra la relación entre la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* suministrados y el rendimiento de *C. utilis* var. *major*, notándose claramente que no existe dependencia o regresión lineal, cuadrática, logarítmica ni exponencial de las variables. El rendimiento es máximo a la concentración de 20 g/L de ART (55,83%).

La figura 3 muestra la relación entre la concentración de azúcares reductores

totales de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* y la productividad de *C. utilis* var. *major*, observándose que existe dependencia o regresión lineal, cuadrática, logarítmica y exponencial entre las variables. La productividad aumenta progresivamente desde 0,02000 hasta 0,28000 g/L.h , tal como se incremente la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* y la biomasa neta producida respectivamente.

La figura 4 muestra la comparación del valor del rendimiento teórico, valor del testigo y experimental de *C. utilis* var. *major* a diferentes concentraciones de azúcares reductores totales suministrados de la “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor*, obteniéndose el valor de rendimiento más alto a la concentración de 20 g/L. ART cercano al testigo y al valor teórico; y el

Tabla 1 : Valores promedio originales y estimados de biomasa neta producida, rendimiento y productividad de *Candida utilis* var. *major* a diferentes concentraciones de azúcares reductores totales (ART) suministrados de la “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor*.

So (g/L)	BIOMASA “X” (g/L)		RENDIMIENTO “Y” (%)		PRODUCTIVIDAD “P” (g/L.h)	
	Observadas	Estimadas	Observadas	Estimadas	Observadas	Estimadas
40	12	13.187	55.96	-935.731	0.24	0.613
0	2	-1.021	0	7.069	0	-0.027
5	1	2.512	20.35	8.219	0.02	0.053
10	5	5.069	50.34	-24.631	0.1	0.133
15	8	8.312	53.54	-94.481	0.16	0.213
20	11	10.387	55.19	-192.331	0.22	0.293
25	12	11.912	48.14	-327.181	0.24	0.373
30	13	12.887	43.42	-496.031	0.26	0.453
35	14	13.312	42.94	-698.881	0.28	0.533

Leyenda:

Blanco 0,0 g/L ART

So = Concentración de Azúcares reductores Totales “ART” (g/L).

X = Biomasa Neta Producida (g/L).

Y = Rendimiento en base a Azúcares Reductores Suministrados.

P = Productividad del Sistema (g/L.h)

Tabla 2: Relación de las variables (correlación y regresión) de la concentración de azúcares reductores totales de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* y la biomasa neta producida, el rendimiento y la productividad de *Candida utilis* var. *major*.

VARIABLES		BIOMASA	RENDIMIENTO	PRODUCTIVIDAD
CONCENTRACIÓN	r	0.996	0.632	0.996
	a	1.057	2.343	0.021
	b	-3.964	20.802	-0.079
	g.l	4	4	4
	$\alpha/2$	1%	1%	1%
	tc	15.708*	1.554	15.708*
	tt	2.777	2.777	2.777
	Fc	314.734**	1.856	314.734**
Ft	5.786	5.786	5.786	

*Diferencias altamente significativas (1 % error).

**Diferencias muy altamente significativas (1 % error).

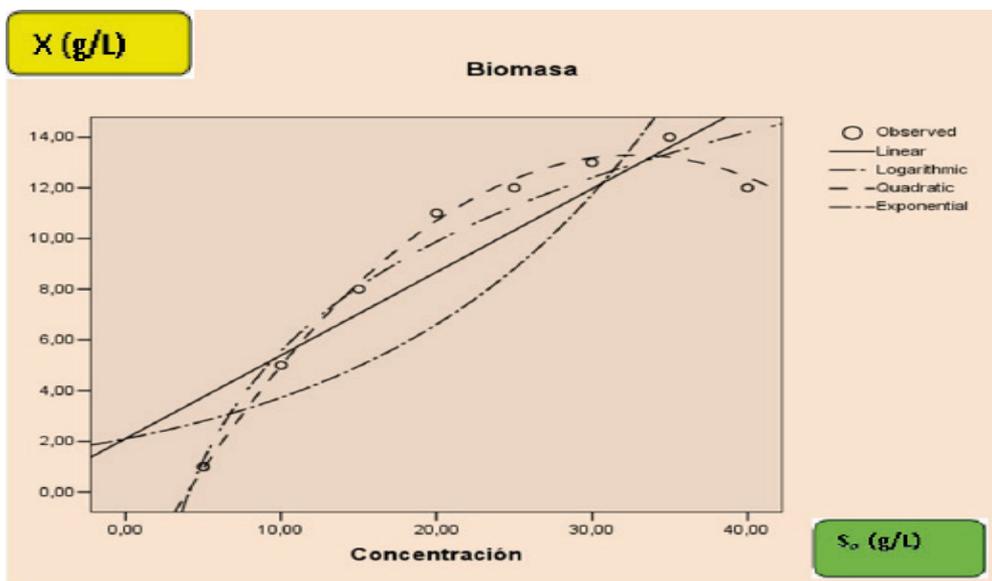


Figura 1: Relación entre la concentración de azúcares reductores totales (ART) suministrados “So” (g/L) de cáscara de *Coffea arabica* var. *catimor* y la biomasa neta producida X (g/L) de *Candida utilis* var. *major*. (Programa Estadístico SPSS).

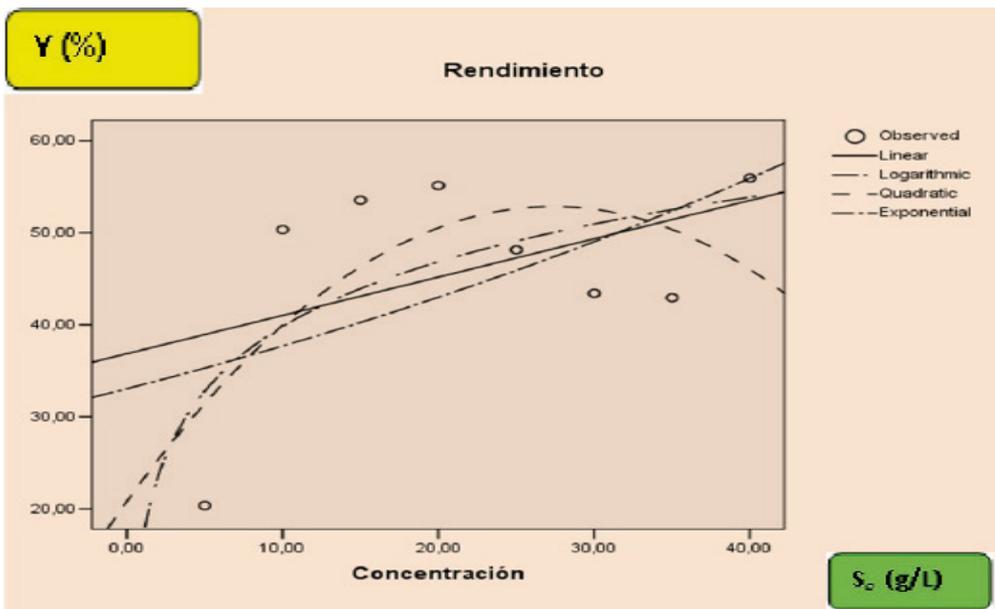


Figura 2: Relación entre la concentración de azúcares reductores totales (ART) suministrados “So” (g/L) de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* y el rendimiento “Y” (%) de *Candida utilis* var. *major*. (Programa Estadístico SPSS).

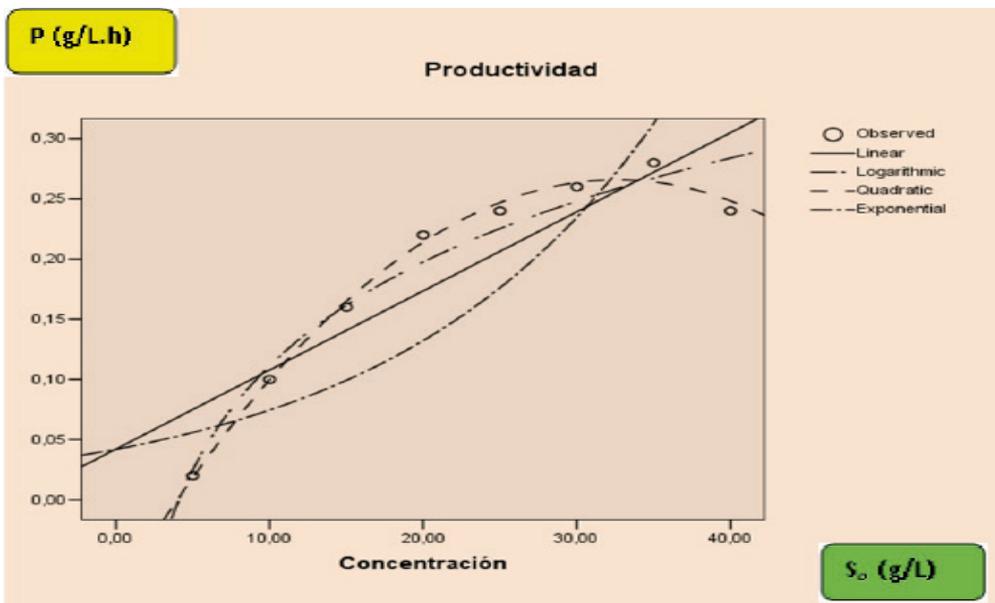


Figura 3: Relación entre la concentración de azúcares reductores totales (ART) suministrados “So” (g/L) de “cáscara” de *Coffea arabica* var. *catimor* y la productividad “P” (g/L.h) de *Candida utilis* var. *major*. (Programa Estadístico SPSS).

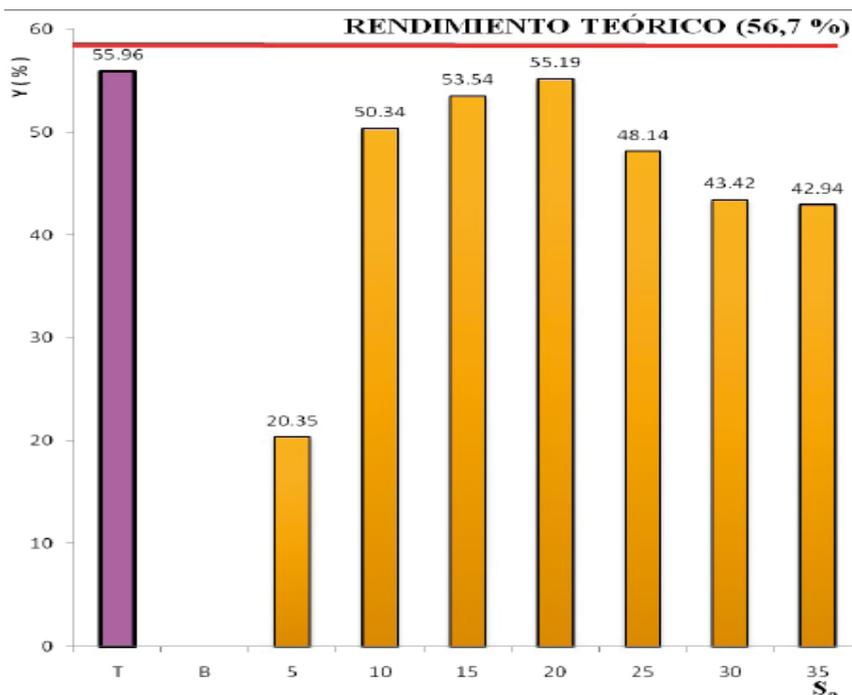


Figura 4: Comparación del rendimiento "Y" (%) Teórico y Experimental de *Candida utilis* var. *major* a diferentes concentraciones de azúcares reductores totales (ART) suministrados "S" (g/L) de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* (Programa Estadístico SPS)

valor más lejano 5 g/L.

Discusión

Para la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*, es indispensable la adición de fuentes nitrogenadas como fuente de material de construcción celular, y fuentes carbonadas como material energético en el crecimiento microbiano. En ese sentido, en esta investigación se ha utilizado sulfato de amonio 1 g/L (Bailón, 2001; León, 2005), de no ser así, por falta de nitrógeno el crecimiento y la producción de *Candida utilis* var. *major* es baja (Israelidis & Evangelopus, 1980); de igual forma, en el cultivo y producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major* constituye un factor influyente la concentración de azúcares presentes en el medio de fermentación (Estévez, 1998; León, 2005).

Según la Tabla 2 se observa la relación

de variables (correlación y regresión) las que demuestran dependencia de la biomasa neta producida y la productividad y la no dependencia respecto al rendimiento de *Candida utilis* var. *major*, respecto a la concentración de los azúcares reductores totales de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*. Investigaciones anteriores demuestran, que la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*, está influenciada por factores como, la composición del medio de cultivo, condiciones ambientales y tipo de microorganismo (Estévez, 1998; León, 2005); en esta investigación, los parámetros ambientales y el microorganismo ha sido mantenidos constantes; en ese sentido, la producción de proteína unicelular de *C. utilis* ha dependido exclusivamente de la composición del medio de cultivo, específicamente de la concentración de los

azúcares reductores totales extraídos de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*.

Respecto a biomasa neta y productividad de *C. utilis* var. *major*, existe diferencias altamente significativas (1 % error), frente a diferentes concentraciones de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*, como se observa en las figuras 1 y 3, según la regresión y la comparación de medias (1 % error) por el método "t", sin embargo, el rendimiento no muestra diferencias significativas, tal como se aprecia en la figura 2 y anexo 10 (Freese, 1998; León, 2005). De acuerdo a esto, la biomasa neta producida de *C. utilis* var. *major*, se incrementa progresivamente conforme se incrementa la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*; de igual forma ocurre con la productividad, debido al control de ciertos factores, como: la eficiente homogenización, suministro de oxígeno y disponibilidad del sustrato en el medio fermentativo (Estévez, 1998; León, 2005).

El estudio demuestra, que el rendimiento aumenta hasta una concentración de 20 g/L de azúcares reductores totales, decayendo en forma progresiva conforme sigue aumentando la concentración del sustrato, difiriendo este resultado de lo obtenido por León (2005), quien encontró un rendimiento máximo a 15 g/L, utilizando azúcares reductores totales de melaza de "caña de azúcar". Dicho comportamiento tiene que ver con el metabolismo de los azúcares a nivel endocelular, donde los sitios activos de las enzimas transforman a estas moléculas en otros metabolitos energéticos, para el desarrollo y crecimiento celular, indicando que 20 g/L es una concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*, en la que se alcanza una mejor producción, rendimiento y productividad de *C. utilis* var. *major*

(Hebert, 1999, León 2005).

Existen varios factores que explican el comportamiento observado, debido a que la efectividad y eficacia del metabolismo del cultivo, está en relación a ciertas condiciones físico-químicas a la cual fue sometida esta población de *C. utilis* var. *major*, por ejemplo: Presencia de ciertas sustancias coloidales, taninos, alcaloides, entre otras, propias de la "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*, capaces de incrementar el metabolismo celular; efectos de metabolitos secundarios sobre el crecimiento de la levaduras; sin embargo, la densidad poblacional influye sobre el rendimiento de las levaduras sobre el consumo del sustrato, así como inhibición de la actividad enzimática por saturación y sobresaturación de sustrato u otros parámetros; existencia de ciertos gradientes de concentración dentro del cultivo a causa de mezclado y aireación eficiente; además, la presencia de otros nutrientes no azúcares en el sustrato (Leandro, 1981; Quintero, 1981; Torres, 1995; Estévez, 1998; León, 2005).

Estudios realizados a nivel industrial, en el cultivo de *C. utilis* var. *major*, emplearon melaza de "caña de azúcar" diluida al 2 % (20 g/L), obteniendo un rendimiento de 45 % (Estévez, 1998), el mismo que se encuentra muy por debajo del rendimiento teórico 56,7 %; en ese sentido, comparando los resultados obtenidos en la presente investigación, con los valores obtenidos por Estévez (1998) y León (2005), se observa que el rendimiento de *C. utilis* var. *major*, obtenido (55,19 %) es muy superior a 45 % y cercano al encontrado por León (2005) de (55 %) y mucho más cercano al valor teórico (56,7 %).

En ese sentido, la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor*, influyó

significativamente en forma positiva en la producción de *C. utilis* var. *major*, siendo 20 g/L la concentración máxima para lograr el mayor rendimiento (55,19 %), observándose así mismo, que a mayor concentración de azúcares reductores totales el rendimiento decae en 12,25 puntos, siendo un índice negativo económico que produciría si se trabajase a altas concentraciones de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* especialmente a nivel piloto e industrial (Estévez, 1998; León, 2005).

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, de la influencia de la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major* a condiciones de temperatura entre los 25 +/- 3 °C; pH de 5,0 - 5,5 y a un flujo de aire de 20 mL/s se concluye:

El incremento de la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* influye significativamente en el aumento de la producción de proteína unicelular en forma directamente proporcional respecto a la biomasa neta y la productividad de *C. utilis* var. *major*.

El rendimiento de *C. utilis* var. *major* en la producción de proteína celular, se incrementa conforme se aumenta la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* var. *catimor* hasta un máximo 20 g/L, con el que se alcanza el rendimiento máximo (55,19 %) de *C. utilis* var. *major* posterior a este el rendimiento decae significativamente.

Literatura citada

Bailón, S. 2001. Influencia del Sulfato de amonio, nitrato de potasio y úrea en la producción de proteína

unicelular de *Candida utilis* var. *major*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias. Mención Microbiología Industrial y Biotecnología. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

Bardales, C. 2009. Extracción de azúcares reductores totales de "peladilla" de *Asparagus officinalis* "esparrago". *Arnaldoa* 6 (1): 71-73.

Bresanni, R; 2005. Pulpa y pergamino de "café" I. Composición química y contenido de aminoácidos. Costa Rica. 22: 299 -304.

Box, M. 1993. Biotecnología, Agricultura y Alimentación. Ediciones Mundi Prensa. Madrid. España.

Carter, G. 1996. Comercial Biotechnology: An International Analysis. Webered. New Cork. Estados Unidos.

Manual Difco. 1984. Dehydrated cultivo médium and reagent for microbiology. 10 ed. Edit. Disco Laboratorios. Detroit. USA.

Estévez, R. 1998. Influencia de la concentración de azúcares sobre la producción de levadura torula. *Rev. ICIDCA.* 7(3) 61-63.

Folin & Wu. 1920, *Journal biological chemistry.* Vol 41, 367. referido en *Physiological chemistry.* Philip H; Hawk, B; Oser, W. Summerson. 12va ed. Edit. The Blackiston Company. Toronto. Canada.

Freese, F. 1998. Métodos estadísticos elementales para técnicas forestales. Edit. Departamento de agricultura de los Estados Unidos de América. USA. García, M; Quintero, R y López A. 1993. Biotecnología Alimentaria. Edit. Limusa S.A. México.

Gómez, J. 1999. Variación de la concentración de aminoácidos obtenidos a partir de la fermentación de suero láctico con *Kluveromyces fragilis*. Tesis para optar el grado de bachiller en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

Hebert, D. 1999. Some principles of continuous culture. Recent progress in Microbiology. Edit. G. Tunevall. Canada.

Israelidis, C. & A. Evangelopoulos. 1980. Enzimatic and Microbial Conversion of Cellulose Agricultural by Products for the Production of Animal Feed. *Etanol and Chemical Cronica,* 9, pp. 337 -352.

Kirk, R & D, Othmer. 1998. Enciclopedia de Tecnología Química. Edit. Limusa. Mexico.

León, C. 2005. Influencia de la concentración de melaza de *Saccharum officinarum* L. en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*. Tesis para optar el grado de maestro en Ciencias

Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

- Leandro, A.** 1981. Bromatología. Tomo I. 2a edic. Edit. Universitaria de Buenos Aires. Argentina.
- Lithfield, J.** 1986. Technical, Economic and Market Strategies for Microbial Biomasa Proteins. Elsevier Applied Science Publishers. Gran Bretaña.
- Marchand, G.** 1997. Inorganic: Spray torula yeast. [www. Tessengerlo.com/c/m120123.htm](http://www.Tessengerlo.com/c/m120123.htm).
- OMS. Organización Mundial de la Salud.** 2005. Informe Anual para el año 2005. Washington. Estados Unidos.
- Quintero, R.** 1981. Ingeniería Bioquímica. Teoría y Aplicaciones. Editorial Alambra Mexicana S.A. México. D.F. México.
- Restrepo, J.** 1978 Pulpa de “café”, composición, tecnología y utilización. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). <http://www.cedeco.or.cr/documentos/Caracterizacion%20del%20cafe.pdf>.
- Scragg, A.** 1996. Biotecnología para ingenieros. Edit. Acriba. Zaragoza. España.
- Torres, A.** 1995. Producción de *K. fragilis* ATCC. Concentraciones diferentes de lactosuero de vacuno y estiércol de “cerdo” a temperatura y pH óptimos. Tesis para optar el grado de Maestro en Microbiología Industrial y Biotecnología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.