

Sulfato de amonio en el enriquecimiento proteico de vainas de algarrobo (*Prosopis pallida*) con cepa nativa de *Candida utilis*

Ammonium sulfate in protein enrichment of carob (*Prosopis pallida*) pods with native stumps of *Candida utilis*

José Ecurra Aguirre¹, Kari Toro Vásquez², Gilmar Mendoza Ordóñez³,
Carmen Carreño Farfán⁴, Fernando Rodríguez Avalos⁵

RESUMEN

Los frutos de algarrobo, *Prosopis pallida*, son aprovechados directamente en la alimentación animal e indirectamente a través de subproductos en la alimentación humana; su moderado contenido de proteína puede ser mejorado mediante el cultivo de levaduras, como *Candida utilis*, para mejor utilización en la alimentación animal. Esta investigación fue realizada con el objetivo de determinar la concentración óptima de sulfato de amonio en el enriquecimiento de vainas de *Prosopis pallida* con cepa nativa de *Candida utilis*. De pancas de maíz (*Zea mays* L.), 24 cepas de *C. utilis* fueron aisladas en Agar Sabouraud glucosado más cloranfenicol (2 mL/1 L de medio), a las que se les determinó el peso seco de la biomasa formada en caldo algarroba a 30 °C durante 5 días. La cepa *C. utilis* UNPRG-JK2 fue seleccionada debido a que alcanzó el más alto valor de biomasa (35,0 mg/mL). A biorreactores tipo tanque Batch con agitación manual, conteniendo 100 g de sustrato sólido vainas de *P. pallida*, se adicionó sulfato de amonio en concentraciones de: 0,0 %; 0,5 %; 1,0 % y 1,5 %; y luego 10 mL del inóculo de *Candida utilis* UNPRG-JK2, previamente estandarizado (10⁶ células viables/mL). Todos los biorreactores fueron incubados a 30 °C durante 5 días con 10 minutos de agitación manual cada 4 horas. El sulfato de amonio al 1,0% fue el óptimo en el enriquecimiento de vainas de *P. pallida* con cepa nativa de *C. utilis* UNPRG-JK2 debido a que incrementó la proteína en un 82,26 % (desde 9,07 % a 18,19 %).

Palabras clave: Algarrobo, *Prosopis pallida*, *Candida utilis*, sulfato de amonio, enriquecimiento de proteína.

¹ Licenciado en Biología. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

² Licenciado en Biología. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

³ Doctor en Mejoramiento Genético Animal, Profesor Principal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo.

⁴ Master of Science, Profesor Asociado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

⁵ Ingeniero Químico. Master of Science, Doctor en Educación. Profesor Principal de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo.

ABSTRACT

Carob fruits, *Prosopis pallida*, are used in animal feeding directly and human feeding indirectly; their medium content of proteins can be improved by cultivation of yeast, as *Candida utilis*, for a better use in animal feeding. This research was carried out with the aim to determine the best concentration of ammonium sulfate in the enrichment of pods of *Prosopis pallida* with native stumps of *Candida utilis*. From leaf of corn (*Zea mays* L.), 24 stumps of *C. utilis* were isolated in glucosade Agar Sabourand and Choramphenicol (2 mL/L as medium). In the stumps, the dry weight of biomass, formed in carob culture medium at 30 °C during 5 days, was determined. The stumps *C. utilis* UNPRG-JK2 was chosen, because it got the highest biomass (35,0 mg/mL). To Batch Tank Type bioreactors, with manual stirring, having 100 g of substrate (solid pods of *P. pallida*), ammonium sulphate, in concentrations of 0,0%, 0,5%, 1,0%, and 1,5%, were added, and then, 10 mL of inocule of *C. utilis* UNPRG-JK2, previously standarized (106 viable cells/mL). All bioreactors were incubated at 30 °C, during 5 days, with 10 min of manual stirring every 4 h. Ammonium sulphate at 1,0% was the best in the enrichment of pods of *P. pallida* with native stumps of *C. utilis* UNPRG-JK2, because it increased the protein content in 82,26% (from 9,07 to 18,19%).

Key words: Carob, *Prosopis pallida*, *Candida utilis*, sulfato de amonio, protein enrichment.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, como en otros países del mundo, la actividad pecuaria demanda de alimentos balanceados ricos en proteína que satisfagan los requerimientos nutricionales del animal que los consume, y estimulen su crecimiento y desarrollo. Sin embargo, existe escasez de proteína y la que se produce no satisface las exigencias del mercado; la proteína animal tiene costo y tiempo altos de producción; y en cuanto a la vegetal, las tierras de cultivo se están dirigiendo a otros usos lo que impide aumentar la producción de alimentos.

La costa peruana, caracterizada por su clima seco tropical y ser poseedora de suelos áridos y semiáridos, ha condicionado la existencia de un recurso forestal de importancia: el algarrobo (*Prosopis pallida*). La trascendencia de este recurso no sólo radica en su madera, sino también en su fruto, aprovechado directamente en la alimentación animal e indirectamente a través de subproductos en la alimentación humana (Díaz, 1995). Dentro de los componentes del fruto del *Prosopis pallida* destacan los compuestos no nitrogenados constituidos por carbohidratos y lípidos, que son responsables del alto valor energético. Su moderado contenido de proteína (9,11% - 10,23%), podría ser mejorado con el cultivo de microorganismos en el proceso denominado enriquecimiento proteico (Guevara y Flores, 1997; Barrena, 1999).

El enriquecimiento proteico es definido como el desarrollo de biomasa microbiana en sustratos con alto contenido de carbono y bajo de nitrógeno. La biomasa microbia-

na describe fuentes proteicas no convencionales como las obtenidas de bacterias, algas, levaduras y hongos filamentosos que son utilizados como alimento complementario en la alimentación de animales (Barrena, 1999). El grupo de microorganismos de mayor uso en la producción de biomasa microbiana proviene de las levaduras como *Candida utilis*, debido a que son las más aceptadas por los consumidores, son fácilmente digeridas, son raramente toxigénicas y pueden ser utilizadas inclusive para la alimentación humana. Estos microorganismos contienen entre 30 a 80% de proteínas, 7 a 9% de lisina, tasa baja de aminoácidos sulfurados (0,7 - 1,7 % de cisteína y 1,0 - 2,0% de metionina), además de treonina, vitaminas del grupo B y bajo contenido de ácidos nucleicos (Leveau y Bouix, 2000).

Candida utilis requiere macronutrientes, como el nitrógeno, para ser utilizado en la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y polímeros de la pared celular. La asimilación del nitrógeno ejerce una influencia decisiva en las propiedades de las levaduras, especialmente sobre la forma vegetativa y estabilidad. Se ha demostrado que si estos microorganismos son cultivados con limitación de nitrógeno, la producción de biomasa es baja por lo que es necesario la suplementación con sales inorgánicas nitrogenadas, como el sulfato de amonio, que en concentraciones adecuadas permitan el crecimiento levaduriforme (Nevado y Pozada, 1999).

La problemática expuesta conllevó a la realización del presente estudio, cuyos objetivos fueron: aislar e identificar cepas nativas de *C. utilis* a partir de panca de maíz

(*Zea mays* L.), seleccionar cepas nativas de *C. utilis* según la biomasa formada y determinar cuál de las siguientes concentraciones de sulfato de amonio: 0,0; 0,5; 1,0 y 1,5%, produciría el mejor enriquecimiento de proteínas en las vainas de *Prosopis pallida* con cepa nativa de *C. utilis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de muestreo

Las levaduras *Candida utilis* fueron aisladas de muestras de panca de maíz (*Zea mays* L.) procedentes de unidades agropecuarias de la región Lambayeque.

Obtención y tratamiento de panca de maíz (*Zea mays* L.)

Se recolectaron 48 muestras de panca de maíz (*Zea mays* L.) de las unidades agropecuarias, durante los meses de noviembre 2005 a febrero 2006. Las muestras de aproximadamente 20 g fueron depositadas independientemente en bolsas de papel de primer uso debidamente identificadas para ser llevadas al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para su procesamiento. Cada una de las pancas fue cortada en secciones de aproximadamente 2 cm, y del material obtenido, 10 g se depositó en una bolsa plástica de primer uso. En cada bolsa, se colocó 10 mL de solución salina fisiológica estéril; el contenido se homogenizó durante 10 minutos y del líquido sobrenadante se tomó una alícuota para el aislamiento respectivo.

Obtención de cultivos puros de levaduras

El aislamiento de levaduras se realizó sobre placas de Petri conteniendo agar Sabouraud glucosado más cloranfenicol (2 mL/L de medio de cultivo), las que fueron incubadas a 28 °C durante 5 días en aerobiosis. Posteriormente, se seleccionaron las colonias blancas cremosas con bordes redondeados, a las que se realizó una tinción simple con azul de metileno para verificar la presencia de levaduras. Los casos positivos fueron repicados hacia viales conteniendo agar Sabouraud glucosado inclinado; que fueron incubados a 28 °C durante 48 horas y, posteriormente, mantenidas en refrigeración a 8 °C.

Identificación de *Candida utilis*

Para la identificación del género *Candida*, se indujo la formación del pseudomicelio característico en agar harina de maíz y para la identificación de la especie *C. utilis* se realizaron las pruebas de reducción de nitrato, asimilación y fermentación de carbohidratos (Koneman y Glen, 1980).

Selección de las cepas nativas de *C. utilis*

Con cada cepa se preparó una suspensión de células en solución salina fisiológica estéril cuya concentración se estandarizó a 10^6 células/mL. Posteriormente, se tomó 1 mL de cada una de las suspensiones y se inoculó por triplicado en matraces con 50 mL de caldo algarroba. Todos los matraces fueron incubados a 28 °C en agitación constante (150 rpm) durante 5 días. A continuación, el contenido de cada matraz fue centrifugado a 2 500 rpm durante 20 minutos, el sobrenadante fue eliminado y el sedimento fue deshidratado en la estufa a 60 °C durante 24 horas, para luego determinar el peso de la biomasa seca. Se seleccionó la cepa de *C. utilis* que alcanzó el mayor peso de biomasa.

Acondicionamiento de biorreactores tipo tanque Batch con agitación

Los biorreactores tipo tanque Batch con agitación y en número de veinticuatro estuvieron constituidos por frascos de vidrio de 1 L de capacidad, cuyo extremo superior estuvo cubierto por una tapa de goma con dos orificios. A través del primero de ellos, ingresó una cánula de plástico taponada en su extremo superior con algodón para permitir la salida de gases, y a través del segundo orificio, ingresó un agitador. Los frascos de vidrio fueron esterilizados en el horno, el material de plástico y goma fueron remojados con hipoclorito de sodio 2% durante 24 horas y, posteriormente, irradiados con luz ultravioleta durante 30 minutos.

Preparación del sustrato sólido vainas de *P. pallida*

Las vainas de *P. pallida*, lavadas con agua potable, desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2 % y enjuagadas con agua potable hervida y fría, fueron fraccionadas (0,5 cm) en un molino manual. Porciones de 100 g del material molido fueron depositados en cada uno de los biorreactores, agregándose el sulfato de amonio (0,5%; 1,0%; 1,5%) disuelto en 10 mL de agua destilada. Después, la mezcla fue homogenizada y esterilizada en autoclave a 121 °C, durante 15 minutos.

Análisis físico-químico del sustrato sólido vainas de *P. pallida*

El sustrato sólido vainas de *P. pallida* suplementado con diferentes concentraciones de sulfato de amonio fue analizado para determinar el porcentaje de humedad y extracto seco (método gravimétrico), porcentaje de ceniza (método de calcinación), porcentaje de proteína (mé-

todo Kjeldhal), porcentaje de grasa (método del Soxhlet) y el porcentaje de fibra cruda (método de Hanneberg) (Reupo y Vásquez, 2001).

Preparación del inóculo de *C. utilis*

La cepa de *C. utilis* seleccionada fue cultivada en tres tubos conteniendo agar Sabouraud glucosado inclinado a 30 °C durante 24 horas. Con las colonias desarrolladas se obtuvo una suspensión de células en solución salina fisiológica; 15 mL del cual, se inoculó un matraz conteniendo 15 mL de caldo algarroba que luego se incubó a 30 °C en agitación constante (150 rpm) durante 10 horas. Transcurrido el tiempo, los 15 mL de material fueron vertidos en un

matraz conteniendo 150 mL de caldo algarroba y se incubó a 30 °C en agitación constante (150 rpm) durante 10 horas. Posteriormente, se contó el número de células y se estandarizó la concentración a 10⁶ células/mL.

Determinación del tiempo requerido para alcanzar la concentración celular máxima de *C. utilis*

En cada uno los biorreactores tipo tanque Batch con agitación conteniendo 100 g del sustrato sólido vainas de *P. pallida* suplementando con diferentes concentraciones de sulfato de amonio (0,0 %; 0,5 %; 1,0 %; 1,5 %) se agregó 10 mL del inóculo de *C. utilis* previamente estandarizado.

Cuadro 1
PRUEBA DISCRIMINATORIA DE TUKEY (< 0,05) DEL PESO PROMEDIO DE LA BIOMASA (mg/mL) FORMADA POR CEPAS NATIVAS DE *C. utilis* CULTIVADAS EN CALDO ALGARROBA DURANTE 5 DÍAS

Código de cepas UNPRG <i>C. utilis</i>	Peso seco (mg/mL)	Tukey Significación
JK2	35,000	a
JK5	34,000	a
JK8	34,000	a
JK14	32,000	b
JK16	32,000	b
JK21	32,000	b
JK26	31,000	b c
JK31	31,000	b c
JK3	30,000	c d
JK7	30,000	c d
JK17	30,000	c d
JK25	29,000	d e
JK22	28,733	e
JK28	28,000	e f
JK34	28,000	e f
JK36	28,000	e f
JK38	27,000	f
JK40	27,000	f
JK42	25,000	g
JK44	25,000	g
JK48	20,000	h
JK56	20,000	h
JK58	15,000	i
JK60	15,000	i

X = 27,781
DMS (T) 0,05 = 1,039

zado. Todos los biorreactores fueron incubados a 30 °C durante 5 días, con 10 minutos de agitación cada 4 horas. A partir del momento de inoculación, cada 4 horas y durante 7 días se tomaron muestras de 1,0 g de sustrato para realizar el conteo de células viables de *C. utilis* por gramo de sustrato, determinándose el tiempo requerido para alcanzar la concentración celular máxima.

Cultivo de *C. utilis* en vainas de *P. pallida* suplementadas con diferentes concentraciones de sulfato de amonio

El cultivo de *C. utilis* se llevó a cabo en biorreactores tipo tanque Batch con agitación conteniendo 100 g de sustrato sólido de vainas de *P. pallida* suplementados con diferentes concentraciones de sulfato de amonio (0,0%; 0,5%; 1,0%; 1,5%). Una muestra del sustrato fue tomada inmediatamente después de la inoculación y al final del tiempo requerido para alcanzar la concentración celular máxima, para determinar el porcentaje de proteína del producto obtenido.

Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

El estudio fue conducido en un diseño factorial 2x4, para la evaluación de dos factores, el grupo de estudio (control y experimental) y concentraciones de sulfato de amonio (0,0%; 0,5%; 1,0%; 1,5%), constituyendo ocho tratamientos con tres repeticiones cada uno, totalizando 24 unidades experimentales. Se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos y la prueba discriminativa de Tukey para evaluar su nivel de significación ($< 0,05$). El análisis de los datos fue realizado empleando el paquete estadístico Minitab versión 14.

RESULTADOS

De las 48 (100%) muestras de panca de *Zea mays* L. procesadas, 32 (66,67%) resultaron positivas para el aislamiento de levaduras, obteniéndose un total de 62 cultivos puros levaduriformes, de los que 24 (38,71%) fueron identificados como *C. utilis*.

Los valores promedio del peso de la biomasa formada por cada una de las cepas nativas de *C. utilis* oscilaron entre 35,00 y 15,00 mg de peso seco / mL y de acuerdo a la prueba de Tukey ($< 0,05$) *C. utilis* UNPRG-JK2 presentó el valor mayor de peso seco no diferenciándose estadísticamente de *C. utilis* UNPRG JK5 y UNPRG JK8 (Cuadro 1).

En el Cuadro 2 se presentan los resultados del análisis

físicoquímico del sustrato sólido vainas de *P. pallida* con diferentes concentraciones de sulfato de amonio.

La concentración celular más alta (número de células viables/g) de *C. utilis* UNPRG-JK2 en el sustrato sólido vainas de *P. pallida* fue de $8,2 \times 10^5$ a las 104 horas para 0,0 % de sulfato de amonio; $1,3 \times 10^6$ a las 100 horas para 0,5 % de sulfato de amonio; $1,9 \times 10^8$ a las 80 horas para 1,0 % de sulfato de amonio y $1,1 \times 10^7$ a las 104 horas para 1,5 % de sulfato de amonio (Cuadro 3).

La concentración de sulfato de amonio para el mejor enriquecimiento de vainas de *P. pallida* fue determinada a través de los valores del porcentaje de proteína del sustrato sólido vainas de *P. pallida* cultivadas con *C. utilis* UNPRG JK-2 durante el tiempo requerido para alcanzar la concentración celular máxima, en comparación con sus correspondientes testigos no inoculados. Según la prueba discriminativa de Tukey ($< 0,05$) la interacción *C. utilis* - 1 % de sulfato de amonio, alcanzó el valor mayor del porcentaje de proteína de vainas de *P. pallida* diferenciándose estadísticamente de los otros tratamientos (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

De la panca de maíz, *Zea mays* L., uno de los forrajes usados en las dietas de ganado vacuno (Gonzales y Baptista, 2005), se aisló *C. utilis*. Los forrajes son las partes vegetativas de las plantas gramíneas o leguminosas que contienen hasta 30% de fibra con 3 a 4% de proteína cruda, por lo que albergan microorganismos como bacterias y levaduras entre las que figura *C. utilis* (Wattiaux y Howard, 2006).

De las 24 cepas nativas de *C. utilis*, *C. utilis* UNPRG-JK2 tuvo el mayor peso de biomasa (35,00 mg/mL), considerándosele, por lo tanto útil para el enriquecimiento proteico debido a que en este proceso se requiere de microorganismos de rápido y abundante crecimiento (Barrera, 1999).

El análisis físicoquímico de las vainas de *P. pallida* con diferentes concentraciones de sulfato de amonio dió valores que se encuentran dentro del rango establecido por otros investigadores: 8,08 a 15,25% de humedad; 82,0% a 91,19% de extracto seco; 2,0% a 3,50% de ceniza; 9,07% a 10,86% de proteína; 1,12% a 3,73% de grasa; 54,60% a 57,74% de carbohidratos y con 13,60% a 15,58% de fibra (Bardales, 1992; Bailón, 2001).

Candida utilis se desarrolló en vainas de *P. pallida* debido a que estas legumbres presentan nutrientes, principalmente carbohidratos, además de proteínas, vitaminas y sales. Dentro de los carbohidratos, la sacarosa y la glucosa son los mayoritarios y pueden ser asimilados por *C. uti-*

Cuadro 2
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL SUSTRATO SÓLIDO VAINAS DE *P. pallida*
CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SULFATO DE AMONIO

Análisis físico - químico	Concentración de sulfato de amonio (%)			
	0	0,5	1,0	1,5
Humedad	14,93	15,0	15,0	15,0
Grasa	3,43	3,50	3,50	3,40
Carbohidratos	56,43	56,16	56,01	55,89
Proteína	9,07	9,18	9,20	9,21
Extracto seco	85,03	85,0	85,0	85,0
Ceniza	2,03	2,05	2,37	3,09
Fibra	14,11	14,12	14,11	14,21

Cuadro 3
CONCENTRACIÓN CELULAR DE *C. utilis* UNPRG-JK2 EN SUSTRATO SÓLIDO
VAINAS DE *P. pallida* CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
SULFATO DE AMONIO DURANTE 120 HORAS.

Tiempo		Concentración de sulfato de amonio (%)			
Días	Horas	0	0,5	1,0	1,5
		Concentración celular (Nº de células viables/g)			
1	0	1,3 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴
	4	1,1 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴
	8	1,2 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	1,9 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴
	16	1,6 x 10 ⁴	2,1 x 10 ⁴	2,1 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁴
	20	1,9 x 10 ⁴	2,2 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁴
	24	3,8 x 10 ⁴	2,5 x 10 ⁴	2,4 x 10 ⁴	2,4 x 10 ⁴
2	28	3,5 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁵
	32	3,7 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁵	5,8 x 10 ⁵	4,3 x 10 ⁵
	44	3,8 x 10 ⁵	2,9 x 10 ⁵	7,7 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵
	48	3,6 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁵	9,7 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵
3	52	2,9 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁶	3,5 x 10 ⁵
	56	3,2 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁵	5,8 x 10 ⁶	3,8 x 10 ⁵
	68	3,0 x 10 ⁵	2,6 x 10 ⁵	9,9 x 10 ⁶	5,0 x 10 ⁵
	72	2,8 x 10 ⁵	3,8 x 10 ⁵	6,6 x 10 ⁷	9,0 x 10 ⁵
4	76	3,7 x 10 ⁵	3,9 x 10 ⁵	9,6 x 10 ⁷	5,9 x 10 ⁶
	80	4,0 x 10 ⁵	4,2 x 10 ⁵	1,9 x 10⁸	6,4 x 10 ⁶
	84	4,5 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁸	7,0 x 10 ⁶
	88	4,8 x 10 ⁵	4,4 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁸	7,4 x 10 ⁶
	92	4,9 x 10 ⁵	7,8 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁸	8,7 x 10 ⁶
	96	7,7 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁶	1,5 x 10 ⁸	9,9 x 10 ⁶
5	100	7,8 x 10 ⁵	1,3 x 10⁶	1,3 x 10 ⁸	1,0 x 10 ⁷
	104	8,2 x 10⁵	1,2 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁸	1,1 x 10⁷
	108	8,1 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁶	9,9 x 10 ⁷	1,0 x 10 ⁷
	112	7,7 x 10 ⁵	9,5 x 10 ⁵	9,0 x 10 ⁷	9,9 x 10 ⁶
	116	6,5 x 10 ⁵	8,8 x 10 ⁵	8,9 x 10 ⁷	4,8 x 10 ⁶
	120	6,0 x 10 ⁵	7,8 x 10 ⁵	8,7 x 10 ⁷	1,8 x 10 ⁶

lis como fuente de carbono y energía. Otros investigadores han demostrado que las vainas de *P. pallida* pueden ser usadas como sustrato para la producción de proteína unicelular de *C. utilis*, fundamentando el crecimiento de la levadura con la utilización de los azúcares solubles y sales minerales presentes (Bailón, 2001).

Los resultados demostraron que el sulfato de amonio favorece el crecimiento de *C. utilis* en las vainas de *P. pallida*. Se ha determinado que para la producción de proteína unicelular de *C. utilis* es necesario la adición al medio de cultivo de sustancias nitrogenadas, que puedan ser asimiladas y transformadas en nutrientes esenciales para el crecimiento. El nitrógeno es un nutrimento indispensable. Cuando esta levadura es cultivada con limitación de nitrógeno la producción de biomasa es baja (Deza, Morales y Samamé, 2004).

El porcentaje de proteína se incrementó de manera proporcional al incremento de sulfato de amonio hasta una concentración límite de 1,0%. Por encima de este valor, el porcentaje de proteína disminuyó rápidamente a 14,07%, lo que significa un 22,65% de disminución con respecto a la concentración anterior. Los resultados pueden ser explicados por cuanto, está establecido que la concentración de un sustrato superior al óptimo puede ser tóxico para los microorganismos o causar un tipo de retroalimentación (León, y Soplapuco, 2007).

El sulfato de amonio al 1,0% en el enriquecimiento de vainas de *P. pallida* con *C. utilis* UNPRG-JK2 permitió alcanzar 18,19% de proteína lo que significa el doble del porcentaje de proteína inicial (9,20%). Los resultados se acercaron a los obtenidos utilizando cultivo mixto de *Trichoderma reesei* y *Candida utilis*, donde se

logró enriquecer con 10,88% de proteína el residuo “peladilla” de espárrago (*Asparagus officinalis*), a través de un bioproceso de sustrato sólido durante 6 días de fermentación (Barrena, 1999). *C. utilis* contiene un porcentaje de proteína que oscila entre 50% a 55% (Bailón, 2001) y su cultivo en vainas de *P. pallida* es incrementado por la adición de sulfato de amonio al 1%, sal inorgánica que debido a sus enlaces iónicos, se disocia rápidamente en agua formando amoniaco, fácilmente asimilado por la levadura.

En la producción animal los concentrados preparados para satisfacer los requerimientos proteicos del animal deben contener entre 14% y 24% de proteína, porcentaje que es normalmente proporcionado por la incorporación de harina de soya (*Glycine max*) o harina de pescado (Wattiaux y Howard, 2006). Si la concentración 1,0% de sulfato de amonio en el enriquecimiento de vainas de *P. pallida* con *C. utilis* permite alcanzar hasta 18,19% de proteína podría ser una alternativa de reemplazo parcial de fuentes proteicas que tienen un mayor costo.

CONCLUSIONES

1. El sulfato de amonio al 1% produjo el mejor enriquecimiento de vainas de *P. pallida* con *C. utilis* UNPRG-JK2, debido a que la proteína se incrementó en un 82,26%.
2. Se aislaron 24 cepas de *Candida utilis* a partir de muestras de panca de maíz *Zea mays* L.
3. *Candida utilis* UNPRG-JK2 alcanzó el valor mayor de peso seco (35,00 mg/mL) después de ser cultivada en caldo algarroba durante 5 días.

Cuadro 4

PRUEBA DISCRIMINATORIA DE TUKEY ($< 0,05$) PARA LOS VALORES DEL PORCENTAJE DE PROTEÍNA DE VAINAS DE *P. pallida* POR EFECTO DE DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO Y CONCENTRACIONES DE SULFATO DE AMONIO

Tratamientos	Porcentaje de proteína (%)	Significancia
<i>C. utilis</i> - 1 % de sulfato de amonio	18,190	a
<i>C. utilis</i> - 1,5 % de sulfato de amonio	14,067	b
<i>C. utilis</i> - 0,5 % de sulfato de amonio	11,580	c
<i>C. utilis</i> - 0 % de sulfato de amonio	10,980	d
Control - 1,5 % de sulfato de amonio	9,210	e
Control - 1 % de sulfato de amonio	9,200	e
Control - 0,5 % de sulfato de amonio	9,180	e
Control - 0 % de sulfato de amonio	9,067	e

DMS (T) = 0,641
X = 11,30917

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bailón S. Influencia del sulfato de amonio, nitrato de potasio y úrea en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. major en un medio a base de *Prosopis pallida*. Tesis Maestría. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2001.
2. Bardales L. Evaluación de medios de cultivo a base del fruto de algarrobo (*P.pallida*) en la propagación de hongos fitopatógenos de arroz (*Oryza sativa*). Tesis Licenciatura. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 1992.
3. Barrena G. Optimización del enriquecimiento proteico de "pe-ladilla" de espárrago (*Asparagus officinalis*) con cultivo mixto de *Trichoderma reesei* y *Candida utilis*. Tesis Maestría. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 1999.
4. Deza S, Morales V, Samamé A. Obtención de una proteína unicelular a partir de hidrocarburos parafínicos. Tesis Ingeniería. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2004.
5. Díaz A. Los Algarrobos. Trujillo, Perú : Editorial Libertad ; 1995.
6. Guevara R, Flores J. Empleo de cuatro fracciones de algarroba (*Prosopis pallida*) como medio de cultivo para hongos causantes de pudrición radicular en frijol (*Phaseolus vulgaris*). Tesis Licenciatura. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque; 1997.
7. Gonzales F, Baptista C. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz. Revista Fito-tecnia Mexicana 2005: 393-97.
8. Koneman E, Glen R. Micología. Práctica de Laboratorio. 3era ed. México: Editorial Médica Panamericana; 1980.
9. León E, Soplapuco C. Efecto de la concentración de sacarosa contenida en el extracto de vainas de algarrobo (*Prosopis pallida*) en la producción de exopolímeros por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*. Tesis Licenciatura. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2007.
10. Leveau J, Bouix M. Microbiología Industrial. Los Microorganismos de Interés Industrial. Zaragoza, España: Editorial Acribia; 2000.
11. Nevado R, Pozada E. Elaboración de levaduras forrajeras a partir de vinaza. Tesis Ingeniería. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 1999.
12. Reupo J, Vásquez A. Bromatología Analítica. Manual de Prácticas. Lambayeque, Perú: Editorial Universitaria; 2001.
13. Wattiaux M, Howard W. Alimentación para vacas lecheras. 2006; (2 páginas)
Disponible en:
<http://www.gobant.gob.co/organismos/agricultura/doc/>