

Enriquecimiento proteico de residuales agroindustriales mediante fermentación sólida con el hongo filamentoso *Aspergillus niger*

Proteic Enrichment of Agroindustrial Wastes by Means of the Solid Fermentation with the Filamentous Fungus Aspergillus niger

MSc. Biguín Aguilar-Navarro, MSc. Miladis Camacho-Pozo, Dr. C. Manuel de J. Serrat-Díaz
baguilar@cnt.uo.edu.cu



Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

● Resumen

La fermentación en estado sólido, mediante el empleo de hongos filamentosos, para el enriquecimiento proteico de residuos agroindustriales, como el bagazo de caña de azúcar y los del beneficiado de cítricos y del café, ha sido señalada por varios autores. En este trabajo se estudió el proceso de fermentación sólida con el hongo filamentoso *Aspergillus niger* sobre los residuos del proceso de obtención de aceite de higuera. El incremento obtenido en los contenidos de nitrógeno y proteína bruta sugirió como mejores alternativas aquellas donde se usa la cascarilla como sustrato, en las dos condiciones de humedad evaluadas. Se aprecian, además, disminuciones en los contenidos de grasa y fibra bruta en todos los casos. Como resultado del proceso fermentativo se obtiene, en todas las variantes, un sustrato con características que le permiten su uso como abono orgánico y alimento animal.

Palabras clave: fermentación en estado sólido, *Aspergillus niger*, hongos filamentosos, enriquecimiento proteico, aceite de higuera.

● Abstract

The solid state fermentation by means of the filamentous fungi, for the proteic enrichment of agroindustrial wastes, such as the sugar cane bagasse and those ones of the citric and coffee processing, it has been pointed out by several authors. In this work it was studied the process of solid fermentation of the wastes from the process of obtaining of castor oil, employing the filamentous fungus *Aspergillus niger*. The obtained increase in the nitrogen and gross protein contents suggested like the better alternatives those ones where the husk is used as substrate, under the two evaluated conditions of humidity. A decrease in the fat and gross fiber contents was observed in all cases too. As a result of the fermentative process, it was obtained in all variants a substrate which characteristics allow it to be used as organic fertilizer and food animal.

Key words: solid state fermentation, *Aspergillus niger*, filamentous fungus, proteic enrichment, castor oil.

● Introducción

La erosión es uno de los problemas ambientales que más preocupa en la actualidad; sus consecuencias son catastróficas; una prueba de ello es el crecimiento de los desiertos. Una vez que esta ha alcanzado el

punto culminante de su evolución, es prácticamente irreversible a escala humana. Conseguir que un desierto vuelva a ser suelo fértil es una tarea de siglos o milenios.

La erosión es especialmente preocupante, porque afecta a uno de los elementos básicos para la vida: la

fertilidad de los suelos. El suelo es el lugar sobre el que se desarrolla la mayor parte de las actividades humanas y sobre el que se asientan las plantas, que son la base de nuestra alimentación. Los daños que la erosión produce en el suelo son también peligrosos, porque disminuyen su capacidad para retener agua y recargar los acuíferos de los que nos abastecemos /1/.

Sin lugar a dudas, este problema global de deterioro ambiental se ha convertido hoy en uno de los temas de mayor actualidad, debido a la importancia que tiene para la continuidad de la vida en la tierra y la perpetuidad de la especie humana.

La planta de higuera (*Ricinus communis L.*) es de fácil cultivo y resistente a la escasez de agua, por lo que resulta ideal para su plantación y explotación en cualquier terreno, y es de vital ayuda en la lucha contra la erosión de los suelos /2/.

En nuestra provincia de Santiago de Cuba es de interés la siembra de la misma en zonas áridas de la costa sur, como medida de lucha contra de la erosión, al tiempo que se aprovecha la obtención de su aceite y su posterior aplicación en la fabricación de biodiesel.

El aceite que se extrae de las semillas de esta planta tiene un mercado internacional creciente, asegurado por 700 aplicaciones que incluyen usos medicinales y cosméticos, y la sustitución del petróleo en plásticos y lubricantes. El producto también se utiliza en la producción de fibra óptica, vidrio a prueba de balas y prótesis óseas. Además, es indispensable para impedir la congelación de combustibles y lubricantes de aviones y cohetes espaciales, a bajísimas temperaturas, entre otras aplicaciones /2/.

Sin embargo, en el proceso de obtención del aceite mediante el prensado de las semillas de la planta, se obtienen dos residuos sólidos (*cascarilla* y *torta*) de un volumen considerable, para los que no se describe aplicación alguna debido a la poca información que se tiene de los mismos, lo que provoca un efecto negativo sobre el medio ambiente.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el presente trabajo estuvo dirigido a la evaluación de las potencialidades de la fermentación en estado sólido (FES) como alternativa para el aprovechamiento

biotecnológico de los residuales sólidos del proceso de extracción de aceite de higuera.

● Materiales y métodos

Situación geográfica

La experiencia se realizó a escala de laboratorio en el Departamento de Química el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), ambos de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Oriente, y el laboratorio Geominera Oriente "Elio Trincado".

Obtención de las semillas de higuera

Se colectaron aproximadamente 5 kg de frutas secas en la localidad de Magueyal, del municipio San Luis, provincia Santiago de Cuba. Se separaron los cuerpos extraños, así como de restos de tallos y hojas, y se secaron a temperatura ambiente con exposición al sol, para facilitar la separación de la cáscara del fruto de las semillas. A continuación se presionaron los frutos con un rodillo, para romperlos y liberar las semillas (almendras). En esta etapa se genera el residual sólido denominado *cascarilla*.

Obtención del aceite

El proceso de obtención del aceite por prensado se realizó tanto para la semilla sin cáscara como entera, a una presión de $3,5 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-2}$. En esta etapa se obtuvo el otro residual sólido, denominado *torta*.

Estrategia de muestreo

El residual sólido (*cascarilla* o *torta*) se depositó sobre una bandeja y se mezcló con una espátula, luego se trazó una cruz sobre el material apilado; se eliminaron dos de los segmentos diagonalmente opuestos y se volvieron a mezclar las dos muestras restantes, realizando el mismo procedimiento hasta que quedaron aproximadamente 250 g de muestra /3/.

Para almacenar la muestra durante la investigación se utilizaron frascos de vidrio limpios y con tapa de rosca. La conservación se realizó a temperatura ambiente en un lugar seco y ventilado. Los análisis físico-químicos realizados a ambos residuales fueron los característicos para este tipo de materiales.

Análisis de alternativas de tratamiento biológico

Para el análisis de alternativas de solución se tuvo en cuenta el problema primitivo de la investigación y tres posibles vías de tratamiento biotecnológico: digestión anaerobia, compostaje y enriquecimiento proteico por FES, haciendo énfasis en las siguientes variables: tipo de sustrato, tiempo, contenido de agua, residuos y microorganismos a emplear. En el análisis cualitativo se tomaron como criterios, para cada una de las variables, si el proceso en estudio era indeseable (-), deseable (+), Incierto (?), o neutral ().

En tanto, en el análisis cuantitativo cada una de las variables, en cada alternativa, se evaluó en una escala de 10. A cada variable, según el interés de la investigación, se le asignó un valor de ponderación: tiempo (10), sustrato y contenido de agua (8) y residuos y microorganismo (7). La sumatoria, para cada una de las alternativas, de los productos del valor obtenido por cada variable por la correspondiente ponderación, indica la cantidad de puntos posibles por alternativa, siendo favorecida para la selección aquella que obtuviese la mayor puntuación.

FES de los residuos. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado tuvo en cuenta tres elementos determinantes en cualquier FES: el agente biológico (moho), la naturaleza y composición del sustrato (cascarilla y torta) y los niveles de actividad de agua (bajo y alto). El mismo consistió en un diseño factorial con dos variables independientes (factores) y dos niveles (2²) (tabla 1). Como variable respuesta se significó el por ciento de nitrógeno. Se utilizaron tres réplicas para cada una de las cuatro variantes experimentales.

TABLA 1. DISEÑO EXPERIMENTAL UTILIZADO EN LA FES DE LOS RESIDUOS

Experimento	Sustrato	Humedad
1	-	-
2	-	+
3	+	-
4	+	+

Leyenda: sustrato (- cascarilla, + torta), humedad (- bajo, + alto).

Conocida la máxima cantidad de agua que podía retener cada sustrato, lo cual se determinó experimentalmente, siendo para la cascarilla de un 45 % y para la torta de un 36 %, se asumieron estos valores como el nivel alto de humedad para cada residual, en tanto se tomó el 30 % como el nivel bajo de humedad para ambos sustratos.

Durante la experiencia se llevaron los siguientes controles:

1. Control positivo: cascarilla suplementada con agua más nutrientes y sometida a esterilización (121 °C, 20 min).
2. Control positivo: torta suplementada con agua más nutrientes y sometida a esterilización (121 °C, 20 min).
3. Control negativo: cascarilla sin esterilizar.
4. Control negativo: torta sin esterilizar.

Condiciones de fermentación

Microorganismos y conservación: Se utilizó la cepa de hongo filamentoso *Aspergillus niger* CCEBI 3001, perteneciente a la colección de cultivos del CEBI de la Universidad de Oriente. Se conservó en cuñas de Agar Czapek-Dox (modificado), suministrado por la firma BIOECEN (Bejucal, La Habana).

Preparación del inóculo: La cepa del moho se propagó en dos cuñas de Agar Czapek-Dox (modificado) a temperatura ambiente hasta obtenerse una esporulación uniforme (cuatro días). Se preparó una suspensión de conidios en 10 mL de agua destilada estéril, arrastrando el contenido de los dos tubos de preparación. Las suspensiones de los conidios se cuantificaron mediante conteo al microscopio en cámara de Rosenthal.

Suplemento nutritivo: Ambos residuales se suplementaron con una solución de nutrientes a razón de 7,2 y 3,6 mL por cada 10 g de cascarilla y 8 g de torta, respectivamente. La composición de la citada solución fue, expresado en g · dm⁻³: glucosa 50, sulfato de amonio 25, hidrógenofosfato de potasio 10, sulfato de magnesio heptahidratado 2,5, extracto de levadura 5. El pH se ajustó a 4,8 unidades con una solución de ácido clorhídrico 0,1 mol · dm⁻³. La solución nutritiva se esterilizó a 121 °C durante 20 min, previo a su utilización.

Fermentación: Se realizó en frascos Erlenmeyers de 250 mL de capacidad con 10 y 8 g de cascarilla y torta, respectivamente; se adicionaron 0,4 mL de inóculo en cada experiencia, lo que representó $2 \cdot 10^7$ esp/mL y el agua estéril necesaria para alcanzar el porcentaje de humedad requerido en cada caso. Los frascos inoculados se situaron en una cámara húmeda durante todo el tiempo de la experiencia, la cual transcurrió por un periodo de nueve días a temperatura ambiente (28-33 °C).

● Métodos de análisis

Se determinaron las propiedades organolépticas, pH, humedad, cenizas, grasas y nitrógeno total, según se recomienda en la literatura consultada /3-6/.

El porcentaje de nitrógeno total se obtuvo por el método Kjeldahl (la expresión $N \times 6.25$ proporcionó el tanto por ciento de proteína bruta); el porcentaje de grasa bruta, por el método de arrastre de la grasa con éter dietílico; el porcentaje de fibra bruta, mediante la digestión de la muestra en ácido sulfúrico (1,25 %) y posterior digestión en hidróxido de sodio (2,5 %).

Para la determinación del pH se pesaron 2 g de muestras; se añadieron 100 mL de agua destilada y se agitó energicamente durante unos 3 min, procediendo entonces a la medición del pH en un potenciómetro con electrodo combinado.

El contenido de minerales o cenizas brutas se obtuvo a través de la calcinación de la muestra seca a 540 °C. Se asumió que la materia orgánica es la resultante de descontar a la materia seca el contenido de cenizas /7/. Para el cálculo de la relación C/N se aplicó la expresión: $C (\%) = 0,58 \times \text{materia orgánica} (\%)$. Para todos los casos las muestras se analizaron por triplicado.

● Resultados y discusión

Características del proceso extractivo de aceite y residuales generados

Después de obtener el fruto de la planta de higuereta y separar los cuerpos extraños, estos se pueden someter a secado solar o en estufa. En nuestro caso, optamos por la variante de secado solar

por ser más económica, y los resultados obtenidos en ambos casos son similares, facilitando la separación de la semilla del endospermo.

Previo pesado de la muestra seca, se presionó el fruto con un rodillo, separándose la semilla de higuereta (objeto de estudio) de la cáscara. En esta operación se logró un rendimiento aproximado de semillas del 30 %. Como se puede observar, en esta etapa se genera una gran cantidad de residual sólido (cascarilla, 70 %), que es necesario caracterizar para evaluar sus posibles aplicaciones.

El rendimiento de aceite extraído mediante prensado, a una presión máxima de $3,5 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^{-2}$, no superó el 30 % (torta 74,39 %; aceite 25,55 %). Si se compara con trabajos anteriores, el resultado obtenido es similar, aunque el valor reportado en literatura oscila entre un 40 - 45 % /8/. Esto puede estar dado por la época del año en que se realizó la cosecha y los diferentes equipos utilizados en el proceso extractivo. No obstante, el rendimiento de aceite obtenido bajo las condiciones utilizadas en esta experiencia puede considerarse aceptable /8/.

La extracción de la torta con éter etílico corroboró que el proceso de prensado es insuficiente en la extracción, ya que en la torta residual queda retenida una considerable cantidad del aceite (20 %). Esto sugiere la necesidad de mejorar las condiciones de prensado o de establecer un proceso de extracción con disolventes posteriores al prensado, que posibilite una mejor recuperación del aceite contenido en las semillas de esta oleaginosa. Otra alternativa a considerar es el método de arrastre con vapor, ampliamente utilizado en la recuperación del aceite de oliva y de palma.

Caracterización de los residuales

El residual sólido obtenido después de descascarado el fruto de la higuereta (cascarilla), el cual constituye entre un 65-70 % del fruto, es de color amarillo tenue y no tiene aspecto grasiento. Se destaca la presencia de un olor característico, similar al de la cáscara del café y no es grasiento al tacto.

El residual sólido obtenido después de prensado el grano de la higuereta (torta), tiene un aspecto grasiento y color blanco amarillento, con restos de color marrón,

debido a parte de la cáscara que no se eliminó en el proceso previo al prensado. Se destaca la presencia de un olor y sabor rancio y al tacto es bastante grasiento. Esto se debe, fundamentalmente, a la ya citada baja eficiencia en el proceso de prensado, la cual estuvo por debajo de un 35 %, de ahí la gran cantidad de aceite que queda retenido en el residual. Este pobre rendimiento es característico para este tipo de operaciones (prensado).

La composición química de los residuales utilizados como sustratos en la FES se muestra en la tabla 2. Como se observa, la composición de ambos residuos es similar, con la excepción del contenido de grasa bruta, que es muy superior en la torta debido a las insuficiencias ya señaladas al proceso de extracción utilizado.

La composición nitrogenada de estos subproductos agrícolas (próxima al 2 % base seca) permite considerarlos como buenos sustratos para el cultivo de microorganismos, lo cual garantiza la posibilidad de realizar su aprovechamiento biotecnológico mediante la biotécnica de FES, según informan varios autores /5/.

En la extracción del aceite del Piñón botija (*Jatropha curcas L.*), un arbusto utilizado mundialmente como cultivo para evitar la erosión, se reportan /9, 10/ valores muy similares a los de esta experiencia en cuanto a la extracción de grasa, así como en los contenidos de fibra bruta y cenizas del residuo sólido de la extracción, aunque la torta de Piñón botija presenta un porcentaje mayor de proteína.

TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS RESIDUALES ANTES DE LA FES (% BASE SECA)

Residuales	Materia orgánica	N total	Grasa Bruta	Cenizas	Humedad	pH	C/N
Cascarilla	93,63	1,92	1,62	6,37	0,31	7,1	28,3
Torta	95,51	1,68	24,67	3,49	0,28	6,7	33,3

La relación carbono/nitrógeno encontrada es adecuada para muchos procesos biotecnológicos como FES, compostaje y digestión anaerobia /11, 12/, donde se plantea que la misma debe de estar entre 35-30, por lo que se deben tener en cuenta estas posibles alternativas de tratamiento.

El pH en ambos residuales fue cercano a la neutralidad, siendo el efecto ambiental nulo. Los contenidos de humedad resultaron bajos (aprox. 0,3 %), lo cual favorece la estabilidad del residual frente al ataque de microorganismos (fermentación espontánea).

El contenido de cenizas encontrado en ambos residuos se encuentra dentro de los rangos característicos para este tipo de materiales vegetales. La cascarilla presentó casi el doble de cenizas que la torta, lo cual se debe a que los metales fijados por la planta se acumulan preferentemente en esta estructura, como protección a la almendra del fruto. Estas estructuras también se caracterizan por su alto contenido de silicatos.

El contenido de cenizas en la cascarilla de la higuera es comparable al informado /7/ para la cáscara de cacao (7,8 %), la cáscara de maní (7,6 %) y la paja de trigo (6,6 %).

El contenido significativamente superior de grasas en la torta, con respecto a la cascarilla, es consecuencia de la poca eficiencia del proceso de extracción por prensado, en las condiciones utilizadas. Siendo así, el efecto al medio ambiente de este residuo es negativo pues, a pesar de tener una humedad baja, su alto porcentaje de grasas puede conducir a la descomposición por enranciado. Esto también lo hace susceptible a la contaminación por microorganismos productores de enzimas lipolíticas.

Otros análisis físicos y químicos cualitativos realizados permitieron determinar la presencia de óxidos de silicio, magnesio, manganeso, aluminio y cromo, así como trazas de níquel, hierro y cobalto en estos residuales.

La retención de agua en la torta estuvo por debajo del 40 %, en tanto se observó una gran tendencia a la compactación y estructura poco porosa y fibrosa. Por el contrario, en la cascarilla la retención de agua es mayor del 45 %, la tendencia a la compactación es nula y su estructura es fibrosa y porosa, características estas que la hacen un sustrato adecuado para los procesos de FES.

Análisis de alternativas de solución para el tratamiento biológico de los residuos

Para la evaluación, desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo, de las posibilidades de la FES frente a otras alternativas de tratamiento biológico aplicadas a los residuales sólidos del proceso de extracción de aceite de higuera, se tuvo en cuenta el problema primitivo de nuestra investigación, o sea la gran cantidad de residuales sólidos (cascarilla y torta) que se obtienen en el proceso de extracción de aceite de higuera y su nulo aprovechamiento.

Como posibles alternativas para la solución del problema se consideraron:

Alternativa 1. Tratamiento de ambos residuales mediante un proceso de digestión anaerobia.

Alternativa 2. Tratamiento de ambos residuales mediante un proceso de fermentación sólida a través del compostaje.

Alternativa 3. Tratamiento de ambos residuales mediante un proceso de fermentación sólida destinado al enriquecimiento proteico.

Análisis cualitativo

Al analizar los criterios valorativos en cada alternativa para el tratamiento de residuales, podemos ver (tabla 3) que para la digestión anaerobia el

sustrato y el contenido de agua no son deseables, debido a su estado de agregación sólido y la posible adición de agua, lo cual elevaría los costos, el tiempo de duración del proceso adquiere la valoración de incierto, al igual que los residuos remanentes (como lodos) y los microorganismos a utilizar, ya que la utilización de un inóculo de estiércol vacuno encarecería el proceso, todo esto sin tener en cuenta la infraestructura del proceso.

Para la fermentación sólida mediante el compostaje, se observa que el tiempo es el factor indeseable, ya que para obtener un producto con buena calidad el tiempo de fermentación es de aproximadamente tres meses, el sustrato resulta incierto, ya que la degradación de este tipo de material lignocelulósico es difícil, los residuos en dependencia de la calidad del proceso pueden ser inciertos, así como la variedad de microorganismos a contemplar (hongos, bacterias y actinomicetos).

Para el enriquecimiento proteico todos los criterios analizados son deseables, observándose un sustrato que por su estado de agregación y el contenido de agua favorece la fermentación sólida, el tiempo es muy inferior a las alternativas anteriores, el producto remanente obtenido posee un alto valor agregado, dado en parte por el microorganismo utilizado (*Aspergillus niger*), clasificado como GRAS (Generally Recognised As Safe), o sea, seguro para el hombre y el medio ambiente /13/.

Como puede verse en la tabla 3, la mejor alternativa para el tratamiento de los residuales es la número 3 (enriquecimiento proteico mediante fermentación sólida), por poseer un mayor número de criterios deseables que las otras y muy favorables el tipo de sustrato y el tiempo, en comparación con las otras alternativas.

TABLA 3. SELECCIÓN DE ALTERNATIVAS (ANÁLISIS CUALITATIVO)

Alternativas de solución	Sustrato	Tiempo	Contenido de agua	Residuos	Microorganismo
1	-	?	-	?	?
2	?	-	+	?	()
3	+	+	+	+	+

- indeseable + deseable ? Incierto () neutral

Análisis cuantitativo

Desde el punto de vista cuantitativo, asumiendo que las variables tiempo y contenido de agua serían las favorecidas con respecto al sustrato utilizado, puede observarse (tabla 4)

que la mejor alternativa para el tratamiento de los residuales es la número 3 (enriquecimiento proteico mediante fermentación sólida), por alcanzar una mayor puntuación (296 puntos), lo cual coincide con el análisis cualitativo realizado anteriormente.

TABLA 4. SELECCIÓN DE ALTERNATIVAS (ANÁLISIS CUANTITATIVO)

Alternativas de solución	Sustrato (8)	Tiempo (10)	Contenido de agua (8)	Residuos (7)	Microorganismo (7)	Total
1	2	5	2	4	4	138
2	6	2	5	5	3	154
3	8	10	6	6	6	296

Fermentación en estado sólido (FES)

Para el desarrollo de la fermentación se tuvo en cuenta el tamaño de partícula de la cascarilla y la torta, obtenidas en el proceso de extracción de aceite. Para ambos residuales, este se comportó en un rango promedio aceptable, no observándose dimensiones de partícula excesivamente pequeñas o grandes; de ahí que no se afecten la compactación del sustrato ni el acceso del microorganismo a los nutrientes, aspectos estos relevantes en una FES. Por esta razón, se utilizaron ambos sustratos sin ningún tratamiento previo. Se trabajó en cámara húmeda para favorecer simultáneamente la estabilidad en la humedad del medio, la humedad relativa del aire y la temperatura, evitándose de esta forma que, tanto el sustrato como la biomasa formada, sufriesen deshidratación.

Otro aspecto considerado fue el balance de macronutrientes en los sustratos para el proceso

fermentativo. En tal sentido y, sobre la base de la caracterización realizada, se consideró necesario la incorporación de una fuente de carbono adicional (glucosa) y la adición de nitrógeno, para favorecer el óptimo crecimiento del microorganismo.

A partir de las 72 h se observó el desarrollo del micelio del hongo en ambos residuales, así como una transformación en el color de estos (negruzco), ocasionado por la biotransformación producida por el hongo *A. niger*, lo cual se corroboró con el posterior análisis físico-químico del sustrato luego de finalizada la FES. Al microscopio óptico pudo apreciarse la presencia de hifas no septadas, características de *Aspergillus*, en cuyo extremo se visualizó el esporangio, compuesto por una vesícula rodeada por una corona de fiálides en forma de botella, directamente insertadas sobre la vesícula (dato no mostrado).

TABLA 5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS RESIDUALES DESPUÉS DE LA FES (% BASE SECA)

Residuales	Materia orgánica	N total	Grasa bruta	Cenizas	pH	C/N	Fibra bruta
C/hongo A	96,44	4,10	1,45	3,56	4,69	13,64	22,37
C/hongo B	96,32	3,61	1,17	3,68	5,06	15,47	-
T/hongo A	96,85	3,39	17,02	3,15	4,69	16,57	16,20
T/hongo B	-	2,33	11,95	-	4,45	-	-
CPC	97,13	2,47	1,60	2,87	3,8	22,80	26,48
CPT	97,97	2,23	23,20	2,03	5,0	25,48	-

C/hongo A: Fermentación de cascarilla/hongo humedad alta, C/hongo B: Fermentación de cascarilla/hongo humedad baja, T/hongo A: Fermentación de torta/hongo humedad alta, T/hongo B: Fermentación de torta/hongo humedad baja, CPC: Control positivo cascarilla, CPT: Control positivo torta.

La composición química de los residuales después de la FES se presenta en la tabla 4. Puede observarse una disminución en el potencial de iones hidrógeno del medio de cultivo con respecto a los residuales antes de dicho proceso fermentativo, lo cual resulta favorable para el crecimiento del microorganismo. Esta disminución es consecuencia, principalmente, de la producción de ácidos orgánicos por el

hongo (por ejemplo, ácidos cítrico, glucónico, etcétera).

Se observó también un evidente incremento en el contenido de nitrógeno total de los sustratos en las cuatro variantes experimentales ensayadas (tabla 6), siendo este mucho más elevado en el sustrato cascarilla con humedad alta y baja, en ese orden, que en la torta, lo cual corrobora lo planteado en la literatura /7/.

TABLA 6. INCREMENTO DE NITRÓGENO TOTAL Y PROTEÍNA BRUTA AL TÉRMINO DE LA FES (% BASE SECA)

Residuales	N total	Proteína bruta	Incremento	
			N total	Proteína bruta
Cascarilla	1,92	12,0	-	-
Torta	1,68	10,5	-	-
C/Hongo A	4,10	25,62	2,18	13,62
C/Hongo B	3,61	22,56	1,69	10,56
T/Hongo A	3,39	21,18	1,71	10,68
T/Hongo B	2,33	14,56	0,65	4,06
CPC	2,47	15,43	0,55	3,43
CPT	2,23	13,93	0,55	3,43

En los controles estudiados se observó también un incremento (igual para ambos casos), lo cual está dado por la adición de nutrientes (extracto de levadura) al inicio de la FES. Sin embargo, en los controles negativos no se apreció ningún cambio, lo que confirmó la estabilidad del residual, aspecto este que constituye una garantía para su posible almacenamiento.

De los resultados obtenidos en cuanto a la composición bromatológica (fibra, proteína, cenizas y grasa) de los sustratos resultantes de la FES de la cascarilla (tabla 5), se pudo verificar su calidad para su posible uso como suplemento enriquecido en proteína en la alimentación animal /14/. Por otro lado, la relación C/N alcanzada como resultado de la FES puede compararse favorablemente con respecto a otros residuos utilizados como compost /15/.

Los productos enriquecidos proteicamente por FES obtenidos en Cuba, como la *Saccharina* y el *Bagarip*, son utilizados en la alimentación de aves, cerdos y conejos, logrando una proteína verdadera promedio que oscila entre 7 y 8 %, mientras la fibra

bruta mantiene los valores inferiores al 15 %; sin embargo, estos presentan un desfavorable contenido de cenizas, superior al 18 % /16/.

El proceso estudiado, además de simplificar la tecnología, la hace atractiva para las comunidades serranas, al disminuir el impacto ambiental de estos subproductos.

Según los resultados obtenidos en el proceso fermentativo, se observa que la cascarilla es el sustrato más apropiado para el enriquecimiento proteico mediante FES, debido a su estructura fibrosa y porosa, lo cual facilita la retención del agua (hasta aproximadamente el 50 %) y evita la compactación, aspectos estos de crucial importancia para el crecimiento del microorganismo.

La composición química de la cascarilla es comparable con las de las cáscaras de maní, cacao y café, reportándose en la literatura para este tipo de material diferentes procesos fermentativos, entre ellos, el enriquecimiento proteico y la obtención de setas comestibles /7, 17/.

En correspondencia con lo antes planteado, el mayor incremento en los contenidos de nitrógeno total y proteína bruta se obtuvo cuando se usó como sustrato la cascarilla. Si se tiene en cuenta que, en el proceso de obtención del aceite de higuera este residual constituye, aproximadamente, el 70 % del material de partida, lo cual representa un volumen considerable de residuos sin ninguna aplicación, entonces resulta evidente la importancia práctica de este resultado y su posible aplicación a escala productiva.



Conclusiones

1. Se realizó la caracterización química de los residuales sólidos del proceso de extracción de aceite de higuera, determinando las potencialidades para su aprovechamiento por vía biotecnológica

2. La FES de estos residuales constituye la alternativa más apropiada, en comparación con otras alternativas de tratamiento biológico, como la digestión anaerobia y el compostaje.

3. Se demostró la factibilidad de la FES para el aprovechamiento de los residuales sólidos del proceso de extracción de aceite de higuera, mediante el empleo del hongo filamentoso *A. niger*, especialmente en el caso de la cascarilla en su variante de alto contenido de humedad, donde se logran incrementos muy significativos en los contenidos de nitrógeno total y proteína bruta.



Bibliografía

- ASUNCIÓN ROMERO, D. *La erosión*. España: Universidad de Murcia, 2002. 339 p. ISBN 84-8371-309-8.
- BERNARDINI, E.; BAQUERO, J. *Tecnología de Aceites y grasas*. Madrid, España: Editorial Alhambra S.A., 2002.
- LEES, R. *Manual de Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1969.
- CLESCERI, L. *Standars Methods for Examination of Water and Wastewater*. 17th ed. Washington: APHA-AWWA-WPCF, 1989.
- BARNETT, A. *Fermentación del ensilado*. Madrid, España: Ed. Aguilar, 1957.
- LÓPEZ CALVET, J. "Nueva vía para determinación de nitrógeno". *Revista Técnica de Laboratorio*. Valencia: Aqua Técnica S. A., 1994, t. II., no 191, mayo, p. 251-254.
- SÁNCHEZ, J.; ROYSE, D. *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* México DF: Ed. Limusa S.A., 2002.
- PETERSON, C. L.; AULD, D. L.; THOMPSON, J. C. "Experiments with Vegetable Oil Expression". *Transactions of the ASAE*. 2000, 26(5), p. 1298-1302.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SCHMOOK, B. *Edible Provenances of Jatropha curcas from Quintana Roo State of Mexico and Effect of Roasting on Antinutrient and Toxic Factors in Seeds*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000.
- OPENSHAW, K. "A Review of *Jatropha curcas*: an Oil Plant of Unfulfilled Promise". *Biomasa and Bioenergy*. 2000, 19, p. 1-15.
- EU PROJECT SOLARDIST. "Development of a solar distillation waste water treatment for olive oil mills" (EESD: EVK1-CT-2002-30028). Reports on: Composting Laboratory Test Report, Composting Process Design, Evaluation report on the composting process. Igualmente disponible en Internet: <<http://www.wise-rtd.info/en/info/development-solar-distillation-wastewater-treatment-plant-olive-oil-mills>> [Consulta: 20 de febrero de 2013].
- ALCAIDE, E. M.; NEFZAOU, A. "Recycling of Olive Oil by-Products: Possibilities of Utilization in Animal Nutrition, International Biodeterioration & Biodegradation". UK: Elsevier Science Limited, 1996.
- DEIVE, F. J., *et al.* "Production of a Thermostable Extracellular Lipase by *Kluyveromyces marxianus*". *Biotechnology Letters*. 2003, 25, p. 1405-1406.
- MONROY, O., *et al.* *Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos*. México: Ed. AGT S.A., 1990.
- BRENES, G., *et al.* "Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils". *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, p. 3535-3540.
- BRIZUELA, M., *et al.* "Enriquecimiento proteico de residuos de cosecha cañera por FES con hongos filamentosos. LABORAT". *Acta*. 1998, vol. X, no. 3, p. 44-51.
- TRABA, J., *et al.* "Composición y aprovechamiento de los residuales del café". *Reseña Bibliográfica*. Cuba: ECICC-UO, 1992.