

T-UES
1506
B272e
1994
Ej. 2

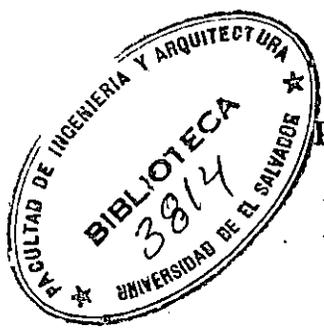
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



EVALUACION DE LAS POSIBLES APLICACIONES DE
LA BIOTECNOLOGIA EN LA RECUPERACION DE
RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR :

SORAYA LISSETE BARRERA RIVERA



PARA OPTAR AL GRADO DE:

INGENIERO QUIMICO

15100914

15120914

FEBRERO DE 1994

SAN SALVADOR EL SALVADOR CENTRO AMERICA

Recibida: 15/03/94

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



TRABAJO DE GRADUACION PREVIO A LA OPCION AL GRADO DE

INGENIERO QUIMICO

EVALUACION DE LAS POSIBLES APLICACIONES DE LA BIOTECNOLOGIA
EN LA RECUPERACION DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

PRESENTADO POR:

SORAYA LISSETTE BARRERA RIVERA

TRABAJO DE GRADUACION APROBADO POR

COORDINADORA: ING. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA

ASESORA: LIC. XOCHILT GODOY DE VILLATORO



SAN SALVADOR, FEBRERO DE 1994

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR : DR. FABIO CASTILLO FIGUEROA
SECRETARIO GENERAL : LIC. MIRNA ANTONIETA PERLA DE ANAYA

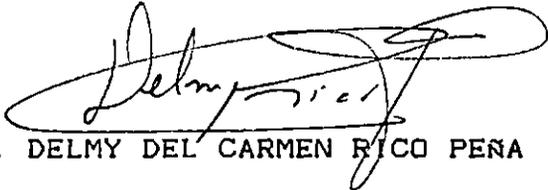
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

DECANO : ING. JUAN JESUS SANCHEZ SALAZAR
SECRETARIO : ING. JOSE RIGOBERTO MURILLO CAMPOS

ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

DIRECTORA




ING. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA

AGRADECIMIENTOS

Quiero patentizar mis agradecimientos a la Universidad de El Salvador, por haberme formado Social y Profesionalmente. De igual manera agradezco a las personas que con su desinteresada colaboración hicieron posible la realización de este trabajo de Graduación.

ING. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA Y LIC. XOCHILT GODOY DE VILLATORO. Coordinadora y Asesora del Trabajo de Graduación.

DRA. MARIA KASS, Directora del Departamento de Bromatología del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Costa Rica.

ING. MERLUS TORRES, de Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados (ANDA).

LIC. MAURICIO ESTEVEZ, Gerente de Dirección General de Estadística y Censos.

LIC. RICARDO MOLINA, Dirección de Saneamiento Ambiental, Santa Ana.

DEDICATORIA

- A DIOS TODOPODEROSO: Porque la meta alcanzada es para su gloria; por su amor y permanecer conmigo en todo momento.
- A MI MADRE: ALICIA RIVERA, por su amor y sacrificio incalculable brindados en todo momento.
- A MIS HERMANOS: HANS OMAR Y JOSE MANUEL, por su cariño y apoyo.
- A MI ESPOSO: MARIO GARCIA, a quien amo, dándome apoyo, paciencia y amor sin límites, pues este triunfo es suyo.
- A MI HIJA: STEFANI BEATRIZ, mi pedacito de cielo, por ser la razón de mi esfuerzo.

RESUMEN

La industria de alimentos en El Salvador, en su productividad genera residuos con un alto potencial de recuperación; sin embargo, su disposición inadecuada ocasiona severos problemas de contaminación al ecosistema, por lo que en esta investigación se proponen soluciones técnicas a esta situación que consisten en aprovechar la riqueza de los residuos mediante aplicaciones biotecnológicas y que podrían minimizar la problemática de contaminación causada.

Específicamente este trabajo se enfocó a un diagnóstico preliminar de grado de contaminación y disponibilidad de residuos de las industrias: cárnica, láctea, de frutas y verduras, avícola y de pescado y mariscos; planteando volumen y grado de contaminación que generan, lo cual sirvió de base para seleccionar tres industrias a evaluar con mayor especificidad, como lo son las industrias cárnica, láctea y de frutas y verduras.

Para plantear las aplicaciones de la biotecnología dirigida a los residuos de las industrias seleccionadas, se consideró su composición química (análisis proximal) encontrándose que de los residuos de la industria láctea, el suero es rico en carbohidratos solubles; asimismo, los residuos de frutas y verduras son ricos en carbohidratos, tanto polisacáridos como mono y disacáridos; por otra parte los residuos de la industria cárnica resultan ser ricos en proteínas.

Entre los proyectos de investigación que se plantean efectuar para los diferentes residuos evaluados están: en la industria láctea el suero de queso, se puede utilizar para la producción de goma Xantana o de otros polisacáridos microbianos que tienen muchas aplicaciones en la industria de alimentos; al igual se puede utilizar para la producción de jarabes también por su contenido de lactosa que al hidrolizarla producen los monosacáridos que constituirían la base de los jarabes; para los residuos de la industria cárnica, no se encontró una técnica biotecnológica aplicable a una recuperación que se adecúe al grado tecnológico de El Salvador. Y para residuos de la industria de frutas y verduras; la cáscara, semillas, bagazo, etc. de frutas y verduras, se recomienda hacer estudios que evalúen la factibilidad técnica de obtener ácido láctico; así como continuar con las investigaciones en la producción de proteína unicelular (Cándida utilis), entre otros.

INDICE

<u>CONTENIDO</u>	<u>PAGINA</u>
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCION.....	1
I- Residuos de la industria de alimentos en El Salvador y su contaminación.....	2
1.1 Grado de contaminación generada de los desechos de la industria de alimentos.....	3
II- Generación y disposición de desechos de la industria de alimentos en El Salvador.....	5
2.1 Volúmenes y Tipo de desechos de la industria de alimentos en El Salvador.....	7
2.1.1 Residuos de la Industria Cárnica.....	9
2.1.2 Residuos de la Industria Láctea.....	11
2.1.3 Residuos de la Industria de Pescado y Mariscos.....	13
2.1.4 Residuos de la Industria Avícola.....	14
2.1.5 Residuos de la Industria de Frutas y Verduras.....	15
2.2 Resumen de la disponibilidad de residuos de la industria de alimentos.....	17
2.2.1 Origen y naturaleza de los residuos de la Industria Láctea.....	18
2.2.2 Origen y naturaleza de los residuos de la Industria Cárnica.....	20

2.2.3 Origen y naturaleza de los residuos de la industria Frutas y Verduras.....	21
III- Técnicas biotecnológicas para el aprovechamiento de residuos de las industrias cárnica, láctea y de frutas y verduras.....	24
3.1 Producción de proteína unicelular a partir de residuos de la industria de alimentos....	25
3.1.1 Proteínas unicelulares a partir de suero de queso.....	26
3.1.2 Producción de proteína unicelular a partir de suero permeado.....	28
3.1.3 Producción de proteína unicelular a partir de residuos de la industria de frutas y verduras.....	30
3.2 Producción de jarabes alimenticios a partir de residuos de la industria de alimentos....	34
3.3 Producción de hidrocoloides a partir de residuos de la industria de alimentos.....	37
3.3.1 Producción de la Goma Xantana a partir de suero de queso.....	39
3.3.2 Producción de Goma gelana a partir de suero de queso.....	41
3.4 Producción de alcohol etílico a partir de residuos de la industria de alimentos.....	42
3.4.1 Producción de Alcohol etílico a partir de desechos cítricos.....	43

3.4.2	Producción de Alcohol etílico a partir de suero de queso.....	44
3.5	Producción de ácido láctico a partir de residuo de la industria de alimentos.....	45
IV-	Aplicaciones potenciales de la biotecnología para el aprovechamiento de los residuos de la industria de alimentos en El Salvador.....	50
	Observaciones.....	53
	Conclusiones.....	54
	Recomendaciones.....	55
	Referencias bibliográficas.....	56
	Anexos.....	61
	.- Anexo A: Clases y tipos generales de contaminación.	61 A
	.- Anexo B: Marchas de laboratorio para evaluación de los parámetros de contaminación ambiental de aguas de desecho.....	63
	.- Anexo C: Marchas de laboratorio para análisis proximal de alimentos.....	75

INDICE DE CUADROS

	<u>PAGINA</u>
CUADRO 1.1: Parámetros que se aplican para evaluar el grado de contaminación de aguas de desecho.....	4
CUADRO 2.1: Características de producción de industrias de alimentos en El Salvador.....	6
CUADRO 2.2: Grado de contaminación generado por las aguas residuales de la industria de alimentos en El Salvador.....	8
CUADRO 2.3: Tipo y naturaleza de los residuos de la industria de alimentos en El Salvador.....	9
CUADRO 2.4: Producciones anuales de carne de animal bovino y porcino.....	10
CUADRO 2.5: Producciones anuales de queso.....	12
CUADRO 2.6: Volumen anual generado de cabeza y caparacho de camarón y camaroncillo.....	14
CUADRO 2.7: Niveles de producción indicados para algunos productos de frutas y verduras procesadas.....	15
CUADRO 2.8: Disponibilidad de residuos de las industrias de alimentos evaluadas en El Salvador	17
CUADRO 2.9: Análisis proximal de la composición química del suero de queso.....	19
CUADRO 2.10 Análisis proximal de la composición química de la sangre del animal.....	21

CUADRO 2.11 Análisis proximal de los residuos de la industria de frutas y verduras.....	22
CUADRO 3.1: Producción de proteína unicelular a partir de residuos de la industria de alimentos..	27
CUADRO 3.2: Análisis proximal de jarabes a partir de suero de queso.....	36
CUADRO 3.3: Producción de ácido láctico a partir de residuos cítricos.....	49

INTRODUCCION

El problema de contaminación al medio ambiente es muy antiguo; sin embargo, se ha destacado con el paso de los años debido al incremento de las actividades industriales entre éstas, la alimenticia, que está constituida por una gran variedad de industrias en las que se mencionan la industria Cárnica, Láctea, Avícola, de Frutas y Verduras, la elaboración de Aceites y Grasas, Panaderas, de Bebidas, de Pescado y Mariscos, etc., por lo que constituyen una base fundamental de producción y desarrollo en un país, además esta industria ha crecido para satisfacer las necesidades de la población y proyectos de exportación.

Estas industrias en su actividad generan principalmente residuos líquidos y sólidos cuyos volúmenes representan grandes cantidades debido a su alta producción. Además la contaminación al medio ambiente que proviene de estos residuos, es una condición preocupante que requiere, tener conocimientos, por lo menos, de los aspectos más generales de esta situación, tipos de residuos, causas de la contaminación, para luego buscar alternativas de su tratamiento y/o aprovechamiento. Para el caso el estudio se enfocará a las posibilidades de aplicación de técnicas biotecnológicas a la reutilización de residuos de las industrias láctea, frutas y verduras y cárnica.

CAPITULO I

RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS EN EL SALVADORY SU CONTAMINACION

Contaminar el medio ambiente significa alterar perjudicialmente sus características físicas y/o químicas de aire, tierra y agua, que puede afectar o afectará nocivamente la vida humana, o la de especies beneficiosas, procesos industriales, condiciones de vida y acervo cultural, o puede malgastar y deteriorar recursos de materias primas (Calderón, 1987).

Las causas de la contaminación normalmente se derivan de la actividad humana, sus orígenes (ver anexo A), y pueden ser divididos en tres grupos básicos: domésticos, agrícolas e industriales. La contaminación de origen doméstica es causada por todas las aguas negras que provienen de la descarga de tipo civil, es decir, de la actividad diaria del hombre, de las casas, de los hoteles, de los restaurantes, de las oficinas, etc. La contaminación de origen agropecuario se debe a las industrias que el hombre desarrolla en la agricultura, ganadería y comprende además la de los abonos químicos, biogicidas, etc., y también los productos del metabolismo animal. Finalmente, la contaminación de origen industrial está causada por todas las descargas industriales que constituyen sin duda el grupo de contaminantes más peligrosos y que presenta los mayores problemas para su eliminación (Repetto, 1991).

A este grupo de contaminantes de origen industrial, específicamente los de la industria de Alimentos, es dirigida esta investigación cuyo objetivo es plantear cómo minimizar los problemas de contaminación, en base a investigaciones biotecnológicas enfocadas a la obtención de productos de uso potencial, que se deriven de los residuos generados en la Industria de alimentos.

1.1 GRADO DE CONTAMINACION GENERADA POR LOS DESECHOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

El grado de contaminación requiere de parámetros básicos para evaluar situaciones de contaminación de una manera rápida, entre los parámetros principales para esta medición se encuentran temperatura, pH, sustancias en suspensión, grasas y aceites, demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno, sustancias sedimentables, etc. dependiendo de la naturaleza del desecho.

Los conceptos generales de estos parámetros se definen en el cuadro 1.1, con los límites permisibles respectivos para El Salvador, y las marchas analíticas para evaluar estos parámetros que se resumen en el anexo B.

CUADRO 1.1 PARAMETROS QUE SE APLICAN PARA EVALUAR EL GRADO DE CONTAMINACION DE AGUAS DE DESECHO

PARAMETRO	OBSERVACIONES	LIMITES PERMISIBLES
TEMPERATURA	Es el grado de calentamiento o enfriamiento que puede detectarse en un cuerpo u objeto.	No superior a 5°C de la temperatura del lugar y no más de 35°C.
pH	Este parámetro indica la intensidad de la condición ácida a la alcalina de agua residual.	Mayor de 6 y menor de 9.
SUSTANCIAS EN SUSPENSION	Expresa la concentración de las materias en suspensión presentes en la muestra	Inferior a 500 mg\L
GRASAS Y ACEITES	Este término comprende todas las sustancias extractables de la materia seca con una mezcla de éteres.	20 mg\L
DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO)	Este parámetro representa el consumo de oxígeno en la reacción de oxidación de las sustancias orgánicas degradables en el agua realizadas en cinco días	Inferior a 1,000 mg\L
DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO)	Es la cantidad total de oxígeno requerido para oxidar un desecho orgánico hasta bióxido de carbono y agua.	300 mg\L
NITROGENO	Juntamente con el fósforo es uno de los principales elementos nutritivos para los microorganismos en una descarga	No se establecen límites directos.
SUSTANCIAS SEDIMENTABLES.	Todo material que se encuentra en una corriente superficial en estado de suspensión y que deposita en el fondo al estar en reposo.	Completa inexistencia.
SOLIDOS TOTALES	Este parámetro representa la totalidad del material suspendido y disuelto que contiene el agua.	Inferior a 1,000 mg\L

Ref. Castillo y Mena (1991); Calderón (1987)

CAPITULO II

GENERACION Y DISPOSICION DE DESECHOS DE LA INDUSTRIA DE
ALIMENTOS EN EL SALVADOR

El estudio de generación, disposición y grado de contaminación de residuos de la industria de alimentos se ha dirigido a las industrias láctea, cárnica, de frutas y verduras, de pescados y mariscos, y avícola; la definición de dichas industria se basó en un análisis del tipo de empresas y volumen de producción de las industrias de alimentos más importantes en El Salvador (ver cuadro 2.1).

Se aclara que en la industria cárnica las 47 empresas registradas se refiere a 47 rastros municipales y particulares y tres empresas de conservación de la carne, además, en la industria de pescado y mariscos las 30 empresas se refieren a 26 barcos operando y cuatro empresas de procesamiento de peces y mariscos.

Para la selección de las industrias de alimentos se enfocan las industrias con mayor volumen de producción y del tipo agro-industrial, debido que es el tipo de industria alimenticia más fuerte de producción y de exportación en El Salvador (Estevez 1993). De acuerdo a lo anterior se seleccionó la industria de pescado y mariscos, la industria cárnica, láctea, avícola y de frutas y verduras. Es necesario aclarar que cuando se mencionen industrias de alimentos se entenderá por las industrias anterior-

mente seleccionadas.

CUADRO 2.1 CARACTERISTICAS DE PRODUCCION DE INDUSTRIAS DE ALIMENTOS EN EL SALVADOR

INDUSTRIA	PRODUCTO PRINCIPAL	No. DE EMPRESA	TON/AÑO
CARNICA	Embutido, mortadela, jamón, salami	11	1,510
	Carne de res y cerdo	47	21,291
AVICOLA	Carne de aves de corral	5	42,337
DE FRUTAS Y VERDURAS	Coctel tropical, Chile jalapeño Jugos de frutas, salsa de tomate, etc.	5	231,368
ELABORACION DE ACEITES Y GRASAS	Margarina, manteca de res, vegetal, aceite comestible	6	28,393
LACTEA	Queso, crema, leche y mantequilla	7	17,107
ELABORACION DE PRODUCTOS DE MOLINERIA	Harina de trigo, de arroz, nixtamasa	6	166,629
FABRICACION DE ALIMENTOS PARA ANIMALES	Concentrados para aves y ganado	3	100,055
PANADERIAS	Pan dulce y pan francés	25	no definido
CONFITERIA	Dulces y chicles	7	3,093
CONDIMENTOS Y ADEREZOS	Mayonesas, especias, mostazas, salsa inglesa	4	1,817
BEBIDAS	Bebidas no alcohólicas y gaseosas	4	no definido
PESCADOS Y MARISCOS	Peces y camarón de toda clase	30	16,370

Ref. Estevez (1993); Dirección General de Estadísticas y Censos (1989-1991).

2.1 VOLUMENES Y TIPO DE DESECHOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS EN EL SALVADOR

La industria de alimentos genera un grado de contaminación el cual se conoce mediante la determinación analítica de los elementos y sustancias químicas presentes en las aguas de descarga y su comparación con los límites permisibles para estas aguas (ver cuadro 2.2). La descripción de las marchas analíticas para evaluar parámetros de contaminación en aguas de desecho, se resume en el Anexo B.

Si se comparan los resultados con los límites permisibles, es fácil observar que, a excepción del pH de la industria cárnica y avícola, y el parámetro de sólidos totales de la industria avícola todos los parámetros de medición se encuentran fuera de los límites establecidos como permisibles, además las tres industrias con mayor grado de contaminación en base a la demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) son, láctea, cárnica, avícola; este grado de contaminación es el más alto, esto se debe a la presencia de sustancias orgánicas.

Para comprender mejor las secciones siguientes referidas a volúmenes de residuos de las industrias de alimentos es necesario aclarar tipo y naturaleza de los residuos, esto se muestra en el cuadro 2.3.

Cuadro 2.2 GRADO DE CONTAMINACION GENERADO POR LAS AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS EN EL SALVADOR

INDUSTRIA	PARAMETROS							
	pH	Población equivalente	Substancias en suspensión mg/l	Nitrógeno mg/l	DBO, a 20°C por 5 días, mg/l	DQO mg/l	Grasas y aceites mg/l	Sólidos Totales mg/l
Cárnica	7.4	75-245/cabeza	900 - 3,000	150 - 500	650 - 2,500	200 - 600	200 - 1,000	5,000 - 9,000
Láctea	4.5	165-340/Ton de leche	600 - 1,100	30 - 100	4,000 - 8,000	-----	240 - 350	3,000 - 10,000
Avícola	7.45	500-600/Ton de animal	800 - 4,000	50 - 100	1,500 - 3,000	2,000 - 3,000	-----	300 - 718
Pescado y Mariscos	--	-----	100 - 1,800	50 - 300	500 - 2,000	-----	100 - 900	-----
Frutas y Verduras	--	350-650/Ton de producto	600 - 1,400	-----	1,800 - 2,300	-----	-----	-----
Límites Permisibles	Mayor de 6 y menor de 9	-----	Inferior a 500 mg/l	No se establecen límites directos	Inferior a 1,000 mg/l	300 mg/l	20 mg/l	Inferior a 1,000 mg/l

Ref. Repetto (1991); Litchfield (1987); Merlos (1993)

CUADRO 2.3 TIPO Y NATURALEZA DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS EN EL SALVADOR.

INDUSTRIA	ESTADO FISICO	NATURALEZA DEL RESIDUO
Cárnica	Líquido	Sangre, agua de limpieza
	Sólido	Carcasa, piel, vísceras, estiércol
Láctea	Líquido	Suero, agua de limpieza
Avícola	Sólido	Pluma, carcasa, estiércol, vísceras
	Líquido	Sangre, agua de limpieza
Pescado y Mariscos	Sólido	Cabeza, caparacho de camarón y camaroncillo
	Líquido	Agua de limpieza
Frutas y Verduras	Sólido	Cáscaras de tomate, pulpa de piña pulpa de manzana y de naranja
	Líquido	Agua de escaldado

Ref. Información proporcionada por cada industria (1993).

De acuerdo a estos datos reportados generalmente los residuos de las industrias son de tipo sólido y líquido; en cuanto a su naturaleza los sólidos dependen del proceso de producción de la industria y de la naturaleza del producto procesado.

2.1.1 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA CARNICA

En la industria cárnica el área de estudio fue el sacrificio del animal; En El Salvador existen registrados 43 rastros

municipales y un matadero particular, en donde se sacrifican ganado bovino y porcino, generando como residuos sólidos carcasa, piel, vísceras, y estiércol del animal; entre los residuos líquidos, el agua de limpieza y la sangre del animal; cuya disposición actual es de la siguiente manera: la piel es vendida a las tenerías, el estiércol para abono, la carcasa para harina, las vísceras junto con la carne es vendida para consumo humano, el agua de limpieza y la sangre del animal son descargados a los alcantarillados municipales o a ríos según el lugar de la matanza (MAGANA, 1993). Por lo cual se cree que los residuos sólidos son utilizados, en su totalidad, no así los líquidos, para los cuales se estimaron los volúmenes generados efectuando los cálculos en base a volúmenes de producción.

En el cuadro 2.4. se presentan las producciones anuales de carne de animal en El Salvador (tanto bovino como porcino). Para efectos de cálculo se determina un promedio.

CUADRO 2.4 PRODUCCIONES ANUALES DE CARNE DE ANIMAL BOVINO Y PORCINO (VALORES PROMEDIOS).

A Ñ O	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Producción de carne bovina y porcina (TON)	22,374	19,540	20,386	23,734	20,298	21,414

Ref. Ministerio de Agricultura y Ganadería (1985-1990)

=====

Para determinar los volúmenes de agua de desecho se tomará en cuenta la siguiente información:

*- Por la matanza de un animal se produce el 55% de carne referido al peso vivo (Pv) y el 7% de sangre (Fs) (MARCHIANI, 1971).

*- El caudal específico de agua descargada en los mataderos de animales (Ce); Ce = 50 Ton. de animal vivo (REPETTO, 1991).

*- Tomando del cuadro 2.4 el promedio de producción de carne de animal (Ma) = 21,291 Ton, se calcula el volumen de agua descargada (V₁) y el volumen de la sangre del animal (V₂) de la siguiente manera:

$$V_1 = Ce * \left(\frac{1}{Pv} \right) = (50 \text{ m}^3/\text{ton de animal vivo}) * (21,291 \text{ Ton} * \frac{1}{0.55})$$

= 1,935,545 m³ de agua de desecho (agua de limpieza y sangre de animal/año)

$$V_2 = Ma * \frac{1}{Pv} * Fs = (21,291 \text{ Tm} * \frac{1}{0.55} * 0.07) = 2,710 \text{ Ton de sangre de animal/año}$$

=====

2.1.2 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA LACTEA

La industria láctea en El Salvador cuenta con 7 empresas registradas, sin cuantificar las plantas artesanales, el estu-

dio de campo a esta industria se enfocó a el área de obtención de queso, la cual genera residuos líquidos, sólomente suero, y aguas de limpieza (ver cuadro 2.3), la disposición actual de estos desechos es dirigida a los alcantarillados municipales (AYALA, 1993).

El volumen de residuo de la industria láctea, referido a el agua de limpieza V_3 , y el volumen del suero V_4 se determinaron con el auxilio de las producciones anuales de queso en El Salvador (Cuadro 2.5).

CUADRO 2.5 PRODUCCIONES ANUALES DE QUESO

A Ñ O	1979	1983	1990
Queso (lb)	789,729	549,641	302,186

Ref. Ministerio de Agricultura y Ganadería (1991).

=====
Además:

- * Por cada 10 lb de queso se generan un promedio de 90 lb de suero (fq) (HOLLO, 1982).
- * El caudal específico de agua descargada para la industria láctea (C_e). $C_e = 12 \text{ m}^3/\text{Ton}$ de producto (REPETTO, 1991).
- * Para efectos de cálculo se determinó del cuadro 2.5 la producción promedio de queso (P_q) = 546,650 lb de queso.

* Del cuadro 2.1 la producción de productos principales para la industria láctea (Pc) es 17,107 Ton/año.

Por lo tanto:

$$V_3 = C_e * P_c = (12 \text{ m}^3/\text{Ton de producto}) * (17,107 \text{ Ton/año})$$

$$V_3 = 205,284 \text{ m}^3 \text{ de agua de desecho (agua de limpieza y suero de queso/año)}$$

$$V_4 = P_q * F_q$$

$$V_4 = 546,649.4 \text{ lb. de queso} * \frac{90 \text{ lb suero}}{10 \text{ lb queso}} = 4,919,844 \text{ lb de suero de queso/año}$$

=====

2.1.3 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE PESCADO Y MARISCOS

En la industria del pescado y mariscos actualmente se encuentran registrados 4 industrias, ubicadas en El Salvador y 26 barcos en operación sin cuantificar los pescadores particulares, el residuo generado actualmente proviene de esta área de pesca, es decir toda la variedad de pescado y mariscos que se recolectan en El Salvador. De acuerdo a Rosales (1993) el único producto que no es utilizado en su totalidad es el camarón y camaroncillo, cabeza y caparacho; este residuo es arrojado a las profundidades del mar y su volumen anual aproximado se reporta el cuadro 2.6.

CUADRO 2.6 VOLUMEN ANUAL GENERADO DE CABEZA Y CAPARACHO DE CAMARON Y CAMARONCILLO.

A Ñ O	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Cabeza y caparacho de camarón y camaroncillo (Kg)	124,330	153,920	105,920	128,679	139,772	123,940

Ref. Centro de Desarrollo Pesquero (1985-1990)

2.1.4 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA AVICOLA

El estudio de la industria avícola está referido a la matanza de aves de corral (pavo y pollo). En El Salvador existen tres grandes industrias avícolas registradas, este tipo de industria genera residuos líquidos y sólidos. El desecho líquido se refiere a las aguas de limpieza el cual es dirigido a una planta de tratamiento de aguas "lagunas de estabilización", y los desechos como la pluma, carcasa, estiércol, vísceras y sangre son dirigidos como materia prima para una área de producción de harina, Por lo anterior se dispuso no determinar los volúmenes de los residuos, pues sólidos y líquidos poseen utilización o tratamiento actual. Sin embargo, no se puede señalar con exactitud en este estudio si el tratamiento aplicado actualmente a las aguas de desecho es el adecuado.

2.1.5 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE FRUTAS Y VERDURAS

En la industria de frutas y verduras de El Salvador se procesan muchas clases de frutas y verduras en pequeña y gran cantidad, sin embargo, se limitó este estudio a áreas donde se procesan los siguientes productos, jugos de frutas, jaleas, salsas frutas conservadas en vinagre o ácido acético.

De las frutas y verduras que se procesan para obtener los productos antes mencionados, se generan los residuos siguientes: pulpa de piña (residuos después de extraer el jugo), cáscara de tomate, pulpa de manzana, pulpa de melocotón, y pulpa de pera, (Bolaños, 1993).

En el cuadro 2.7 se reporta la producción de algunos productos de frutas y verduras procesadas, debido que es la única información a la que se tuvo acceso.

CUADRO 2.7 NIVELES DE PRODUCCION INDICADOS PARA ALGUNOS PRODUCTOS DE FRUTAS Y VERDURAS PROCESADAS.

Año	1983	1989
Jaleas y mermeladas (lb)	209,599	310,531
Jugo de frutas y verduras (lb.)	534,299	-----
Enlatado de frutas y verduras conservadas en vinagre o ácido acético (Lb)	7,260,752	457,957,941
Chile Jalapeño (lb.)	-----	2,755
Salsa de Tomate (lb)	-----	4,465,304

Ref. Ministerio de Agricultura y Ganadería (1983-1989)

El residuo líquido de esta industria se genera de un pretratamiento dirigido a las frutas y verduras (Sección 3.1.3), denominado aguas de escaldado (aguas de limpieza), su volumen (V_5) se estima de la siguiente manera:

=====

* El caudal específico de las aguas de descarga de la industria de frutas y verduras es (C_e)= 12 m³/ton de producto (REPETTO, 1991); Por lo tanto:

$$\begin{aligned} V_5 &= C_e * \text{Producción de productos (cuadro 2.7)} \\ &= 12 \text{ m}^3/\text{ton de producto} * 231,368 \text{ ton de producto} = 2,776,416 \text{ m}^3 \\ &\text{de agua de escaldado/año.} \end{aligned}$$

El volumen de los residuos sólidos de la industria de frutas y verduras (carcasa, semillas, bagazo, etc) representa grandes cantidades debido que constituye aproximadamente el 25% de el peso de la fruta y ésta el 45% de el peso de los productos de frutas y verduras (BRADDOCK, 1979).

Por tanto el volumen de los residuos sólidos (V_6) se calcula de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} V_6 &= (\text{Producción de productos (cuadro 2.7)} * 45\%) * 25\% \\ V_6 &= (462,736,531 \text{ lb.} * 0.45) * 0.25 \\ V_6 &= 52,057,860 \text{ lb. de residuos sólidos (cáscara, semillas,} \\ &\text{bagazo, etc)/año} \end{aligned}$$

=====

Se tomó como dato de producción la suma (462,736,531) para el año de 1989 por falta de una información más completa.

2.2 RESUMEN DE LA DISPONIBILIDAD DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

El objetivo de esta investigación de campo fue analizar el grado de contaminación y volumen de residuos de la industria de alimentos, con el fin de ser los parámetros para seleccionar, al menos tres industrias de alimentos, constituyendo éstas, la base para el planteamiento de proyectos de investigación biotecnológica. Específicamente esta base se enfocó en un estudio de la disposición y naturaleza de los residuos.

Los volúmenes de residuos generados por la industria de alimentos en El Salvador, se resumen en el cuadro 2.8

CUADRO 2.8 DISPONIBILIDAD DE RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS DE ALIMENTOS EVALUADAS EN EL SALVADOR.

INDUSTRIA	NATURALEZA DEL DESECHO	VOL. DEL DESECHO/AÑO
CARNICA	Agua de Limpieza	1,935,545 m ³
	Sangre de Animal	2,710 TON
LACTEA	Agua de Limpieza	205,284 m ³
	Suero de Queso	2,460 TON
PESCADO Y MARISCOS	Cabeza de carapacho de camarón y camaroncillo	143 TON
	Agua de Limpieza	No disponible
DE FRUTAS Y VERDURAS	Agua de Limpieza (agua de escaldado)	2,776,416 m ³
	Cáscara, Semillas, Bagazo	26,029 TON

Información completada con datos de Repetto (1991).

De acuerdo a los datos reportados se observa que la industria de frutas y verduras y cárnica generan grandes cantidades de residuo líquido y sólido. Además la industria de pescado y mariscos genera relativamente poco volumen de residuo sólido. Por lo tanto, analizando el volumen de residuos producidos las tres industrias con mayor disponibilidad de residuo son las industrias cárnica, láctea y de frutas y verduras. Además se encuentran entre las industrias que más contaminan a El Salvador (Sección 2.1), de tal manera dichas industrias fueron seleccionadas para fines de este estudio.

2.2.1 ORIGEN Y NATURALEZA DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA LACTEA

De acuerdo al estudio de campo (sección 2.0) la industria láctea genera los siguientes residuos: suero líquido y aguas de limpieza, este último se origina de todas las actividades de producción, en cambio el suero líquido proviene del procesamiento de la leche para obtener queso, en este proceso primeramente la leche se somete a varias inspecciones. LA DEPURACION de la leche es el primer paso, los métodos principales de depuración es el colado, la filtración y la clarificación. Después de los procesos de depuración es muy recomendable LA PASTEURIZACION de la leche. La leche, normalmente es INOCULADA con cultivos lácticos o especiales y sustancias complementarias, la temperatura de la leche debe ser ajustada entre 28 y 32°C que es la adecuada para

el crecimiento bacterial y para la COAGULACION de las proteínas, prosiguiendo así con el CUAJO. Después de formada la cuajada por la acción de los agentes coagulantes sigue el DESUERADO espontáneo por contracción de la cuajada.

En esta parte del proceso, se genera el suero como residuo; luego siguen el corte y calentamiento de la cuajada, moldeado y prensado, maduración y otra serie de pasos que dependen del tipo de queso a producir (REVILLA, 1985).

En cuanto a la composición química del suero, en el cuadro 2.9 se reporta un análisis proximal del suero líquido y del suero seco.

CUADRO 2.9 ANALISIS PROXIMAL DE LA COMPOSICION QUIMICA DEL SUERO DE QUESO.

RESIDUO	MATERIA SECA	PRO-- TEINA	CARBOHI DRATOS 65% DE LACTOSA	EXTRACTO ETEREO	FI- BRA	CENIZA	Ca	P
SUERO LI- QUIDO % *	6.6	0.9	5.0	0.03	--	0.7	0.05	0.04
SUERO SE- CO % **	92.5	14.7	72.4	1.3	1.4	10.3	--	--

* Base Húmeda

** Base Seca

Ref. McDowell (1974)

Se observa que, el suero de queso es rico en carbohidratos, principalmente lactosa, ya que posee más del 70% de azúcares para el suero seco y 5% para el suero líquido.

2.2.2 ORIGEN Y NATURALEZA DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA CARNICA

Los residuos que genera la industria cárnica en el área de matanza son las aguas de limpieza y la sangre de animal (generalmente bovino y porcino), este se origina de la siguiente manera, en la sala de matanza se inmoviliza el animal (mediante diferentes métodos para insensibilizar al animal), el animal sacrificado es alzado mediante poleas por una pata trasera y es conducido hasta la sala de sangrado, en donde es punzado en la yugular, y la sangre cae en el desagüe inmediatamente. En esta parte del procesamiento se genera la sangre como residuo. Seguidamente quitan todo el cuero al animal, esta operación se realiza con frecuencia manualmente utilizando cuchillos especiales. El destace consiste en abrir la panza al animal para sacarle todas las vísceras y son lavados muchas veces a mano. El animal una vez sin vísceras se le quitan las patas y cabeza, ésta se abre para sacarle la lengua y sesos, luego se abre el animal longitudinalmente en dos partes y finalmente se destaza para la venta (Marchiani, 1971).

Según McDowell (1974) la sangre del animal está constituida por un análisis proximal de la composición química reportada en el cuadro 2.10.

CUADRO 2.10 ANALISIS PROXIMAL DE LA COMPOSICION QUIMICA DE LA SANGRE DEL ANIMAL (BASE SECA).

RESIDUO	MATERIA SECA	PRO--TEINA	CARBOHI DRATOS	EXTRAC- TO ETE- REO	FI- BRA	CENIZA	Ca	P
SANGRE DEL ANIMAL	90.5	79.9	2.6	1.6	0.8	5.6	0.33	0.24

Ref. McDowell (1974)

De acuerdo al cuadro 2.10 se observa que la sangre del animal es altamente rica en proteínas con más del 75%, además posee cierta cantidad considerable de fibra, 0.8% del peso.

2.2.3 ORIGEN Y NATURALEZA DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE FRUTAS Y VERDURAS.

La preparación previa en el procesamiento de frutas y verduras suele ser muy similar cualquiera que sea el método de conservación que haya de aplicarse posteriormente. En esta preparación se originan cáscaras, semillas, aguas de escaldado, etc. que constituye el desecho de esta industria.

Algunos de los procedimientos que se utilizan ampliamente es el siguiente. Normalmente el primer proceso es el de limpieza y lavado por lo que las industrias elaboradas suelen recibir las frutas y verduras contaminantes con tierra y otras materias ex-

trañas, que deberán eliminarse si quieren producirse artículos de alta calidad, por lo general esto se hace en lavadoras rotatorias. Luego se da la eliminación de las porciones no aprovechables; es decir, cualquier porción que en el producto final pueda resultar dañina o inapropiada, esta operación generalmente es hecha a mano. Después sigue el escaldado, que consiste en un tratamiento térmico con agua o vapor y de corta duración cuya naturaleza y propósito varía algo según el procedimiento de conservación que haya de utilizarse. El objetivo del escaldado es reblandecer la piel antes de proceder a las operaciones de pelado. El pelado es una preparación para la elaboración industrial y el pelado a mano es sustituido actualmente por otras técnicas mecánicas. En esta parte se generan los residuos de las frutas y verduras. Después siguen pasos que dependen del destino de el producto (DUCKWORTH, 1978)

Con respecto al análisis proximal de los residuos generados por esta industria, se reportan en el cuadro 2.11.

CUADRO 2.11 ANALISIS PROXIMAL DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE FRUTAS Y VERDURAS (BASE SECA).

RESIDUO	CARBOHI- DRATOS	PROTEINA	FIBRA CRUDA	GRASAS	MATERIA SECA
Pulpa de Tomate	31.1	16.7	38.3	10.3	23.5
Pulpa de Piña	73.6	3.6	18.9	0.8	91.5
Pulpa de Naranja	56.3	5.3	19.0	1.4	35.7
Bagazo Húmedo Manzana*	13.9	1.3	3.7	1.3	20.2

* Base Húmeda

Ref. McDowell (1974)

De los datos reportados en el cuadro 2.11, se observa que los residuos de tomate, piña, naranja y manzana son ricos en carbohidratos, además se observa que la pulpa de tomate es alta en contenido de fibra.

Por la naturaleza química de los residuos analizados, se tiene que tanto para el suero de queso como para los residuos de frutas y verduras hay aún una abundancia en carbohidratos; los cuales vienen a constituir la fuente de carbono ideal de algunos microorganismos con los que al aplicar las técnicas biotecnológicas adecuadas, pueden reconvertir a ese substrato en otro producto útil, tal como se especifica en el capítulo III de este estudio.

En cuanto a los residuos de la industria cárnica que resultan ser ricos en proteína no se tuvo al alcance de este estudio, información que plantee una posibilidad de conversión por técnicas biotecnológicas, por lo que en el siguiente capítulo se omitirá.

CAPITULO III

TECNICAS BIOTECNOLOGICAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS CARNICA, LACTEA Y DE FRUTAS Y VERDURAS

En todos los países, a lo largo de la historia el desarrollo de la producción industrial especialmente la alimenticia va ligado al desarrollo de nuevos conocimientos y técnicas que permiten la utilización y la reconversión de materiales residuales provenientes de estas actividades. Esta utilización en El Salvador se ha dado a muy baja escala y en ocasiones no ha existido, siendo esto motivo para proponer nuevas técnicas de aprovechamiento y tratamientos de desechos.

Este planteamiento es basado en investigaciones biotecnológicas, entendiéndose por biotecnología a cualquier técnica que usa microorganismos vivos (o partes de esos microorganismos) para hacer o modificar productos, mejorar plantas o animales, y desarrollar microorganismos para usos específicos (FEDEPRICAP, 1988)

Las técnicas biotecnológicas se enfocaron a los residuos de las industrias de alimentos seleccionadas; de tal manera el planteamiento dirigido a los residuos de cada industria se basa en aprovechar su riqueza, por ejemplo la producción de proteína unicelular, de jarabes, de hidrocoloides, son técnicas de apro-

vechamiento dirigido a los residuos ricos en carbohidratos.

3.1 PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

Las proteínas unicelulares son una excelente fuente de nutrientes para consumo humano, debido a estudios que reportan un rango de composición proximal de 31 a 82 % de proteína cruda, de 1 a 12% de ceniza, 0.5 a 24% de extracto etéreo, 0.5 a 28% de fibra, 2.4 a 42.8% de carbohidratos. Por lo tanto, siempre ha existido un interés por incorporarla al sistema alimentario humano tanto en forma directa como indirecta a través de animales. Entre los factores que han estimulado el reciente interés por las actividades de investigación y desarrollo de las mismas están: 1) Una escasez cada vez mayor de concentrados de proteínas, tales como harina de soya, las semillas oleaginosas y la harina de pescado, 2) Una preocupación de la contaminación del medio ambiente como consecuencia de los productos de desecho y los efluentes industriales, los cuales se espera convertir en biomasa, 3) La perspectiva de utilizar la biomasa microbiana para la alimentación directa de los seres humanos, con el objeto de contribuir a mitigar las consecuencias de la crisis alimenticia (Hollo, 1982).

La producción de proteína unicelular es una técnica biotecnológica, ya que se efectúa mediante procesos que utilizan micro

organismos (generalmente levaduras) y substratos ricos en carbohidratos convirtiéndolos directamente a biomasa, de tal manera, esta aplicación es recomendable para los residuos, suero líquido, desechos de frutas y verduras, y las aguas de escaldado.

La levadura más utilizada es la Kluyveromyces fragilis y practicado en una escala comercial. El cuadro 3.1 muestra la producción de proteína unicelular a partir de residuos de la industria de alimentos utilizando diferentes microorganismos.

3.1.1 PROTEINAS UNICELULARES A PARTIR DE SUERO DE QUESO.

Esta técnica biotecnológica se basa en que el microorganismo para el caso Sacharomyces fragilis utiliza la lactosa en el suero de queso, que es el azúcar de este sustrato. WASSERMAN (1961) reportó un proceso de propagación de la levadura Sacharomyces fragilis en un medio de suero de queso, en el cual, en la etapa de propagación, el suero se complementa con 0.5% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5% DE K_2HPO_4 y 0.1% de extracto de levadura y con un inóculo de Sacharomyces fragilis igual en peso seco basado en 25% -30% de el peso de el azúcar presente. El pH del medio después de la adición de las sales es aproximadamente 5.5 que está dentro de el pH óptimo para una producción máxima de levadura y mantenido con H_2SO_4 concentrado o NH_4OH , según el caso.

CUADRO 3.1 PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

Microorganismo	Escala	Condiciones	Producción
<u>Aeromonas hydrophila</u>	galones, discontinuo	Suero de queso, 30°C pH=6.7 - 6.8	0.60 gr/ gr de sustrato
<u>Kluyveromyces fragilis</u>	3-25 m ³ continuo	Suero de queso, 30°C pH=3.0	0.56 gr/ gr de sustrato
<u>Torula utilis</u>	discontinuo	Productos de desperdicios agrícolas.	40 lb/día en planta piloto
<u>Torula utilis</u>	discontinuo	Vinazas	En escala industrial una tonelada diaria
<u>Candida Utilis</u>	discontinuo	Jugo de pulpa de café 1.75% p/v, azúcares 3.1 L de sustrato.	0.6 g levadura/ L de sustrato
<u>Candida Utilis</u>	discontinuo. Nivel de laboratorio	Vinaza, 1% p/v de azúcares, 4 L de sustrato.	7.4 g de levadura /g de sustrato
<u>Candida Utilis</u>	discontinuo. Nivel de laboratorio	Jugo de Desechos vegetales, 6.1% p/p de azúcares, 4L de sustrato.	11.15 g levadura/L de sustrato

Ref. Litchfield, (1987); Guerrero y Aguilar (1992)

La unidad de agitación - aireación es una turbina impulsada por un motor a más de 7 1/2 Hp. La turbina rota a más de 300 rpm, la temperatura de control de el medio es afectada por pasar agua fría a 40°F a través de una tubería. Al cabo de 5 horas la suspensión de levadura se concentra en un separador a un 15 - 18%

de sólidos, la crema de levadura se lava en agua y separa muchas veces como sea necesario; la levadura es alimentada a un secador que opera a una presión de vapor de 85 psi y rota a 12 rpm; las escamas de levadura se pasan a un molino de martillo para pulverizar, y finalmente empacar (Wasserman, 1961). Una producción máxima de biomasa es obtenida en 4 horas y cerca de 0.55 lb de levadura seca por 1 lb de lactosa, es decir, 80% de la producción teórica (Wasserman, 1961).

3.1.2 PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR A PARTIR DE SUERO PERMEADO.

Un proceso atractivo de producción de proteína unicelular es a partir de suero permeado. El valor del suero puede ser engrandecido separando dentro de los mayores componentes la proteína, lactosa y sales, mediante los procesos de ultrafiltración y ósmosis inversa que son procesos activados a presión hidráulica que separa componentes en solución en base al tamaño molecular, obteniéndose dos fracciones: una alta en proteína (suero protéico concentrado) con propiedades únicas de una fuente de alimento protéico y el suero permeado consistiendo mayormente en lactosa y sales (LITCHFIELD, 1987).

LITCHFIELD (1987) reportó el aprovechamiento de el suero permeado con un inóculo de Sacharomyces fragilis de la siguiente manera:

La lactosa cruda seca se separa desde el suero de queso por ultrafiltración y ósmosis inversa, para usarla como sustrato. Este producto contiene 75% de lactosa, 3% de proteína, 12% sales, 6% ácido y 4% de humedad. La lactosa cruda es disuelta en agua a concentraciones deseadas y filtrada; 0.5% de sulfato de amonio, 0.5% de fosfato de potasio, 0.5% de peptona, 0.1% de extracto de levadura y 0.03% de urea (p/v) son adicionados como nutrientes al medio. Cada suplemento es disuelto en una pequeña cantidad de agua destilada separadamente son autoclavados a 121°C por 15 min., y adicionados a la solución de lactosa cruda. El pH inicial del medio es entre 5.2 - 5.5.

Las suspensiones de células concentradas son diluidas con agua destilada para una absorbancia entre 0.2 y 0.6. El recipiente para la fermentación, accesorios, tuberías se esterilizan a 121°C por 15 min., 1.2 lt de inóculo con 6 lt de medio estéril se adiciona para obtener una absorbancia de 1.0. En el fermentador la concentración inicial de lactosa en el medio es 2%.

El cultivo es aireado con aire comprimido esterilizado, a una velocidad de un volumen de aire por volumen de medio cultivo. El pH del cultivo se mantiene a 5 por la adición de hidróxido de sodio (1.0 N); la temperatura del cultivo es mantenida a 30°C, la velocidad de agitación es de 700 rpm. El cultivo batch es detenido después de 8 horas, las células de levadura son recolectadas a 5°C y recuperadas en una centrifuga, la pasta de células es

lavada con dos volúmenes de agua destilada y centrifugada. La pasta de células son guardadas y secadas a (-20°C).

Esta técnica se reporta realizada con la levadura Kluyveromyces fragilis y con una producción de 110.5 g de proteína unicelular/litro de Substrato (LITCHFIELD, 1987).

3.1.3 PRODUCCION DE PROTEINA UNICELULAR A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE FRUTAS Y VERDURAS

Entre los desechos de cítricos se pueden mencionar cáscaras, tiras, semillas, etc. estos son residuos ricos en carbohidratos y por lo tanto una fuente de materia prima para la producción de proteína unicelular. Estos residuos antes de utilizarse para este fin se les aplica el siguiente pretratamiento (Kesterson, 1989).

Luego de acumular en recipientes, grandes toneladas de residuos sólidos cítricos, son pasados continuamente a un molino de martillo donde son cortados en piezas aproximadamente 1/4 por 3/4 de pulg. Inmediatamente después se adicionan 0.3 a 0.6 % de cal hidratada, en un transportador (cinta transportadora), mezcla y transporta la pulpa encalada para un recipiente curador o un molino. Acá aproximadamente el tiempo de curado es de 15 min a 25 min. Después del curado, la pulpa encalada es transportada hacia una prensa mecánica en donde exprime la pulpa y reduce la humedad desde aproximadamente 82 a 72% y sobre el 60% de el peso original

de residuos es obtenido como licor prensado. Este licor prensado es usado ventajosamente para la elaboración de proteína unicelular, utilizando Torula utilis, una levadura silvestre que crece rápidamente y da la mejor producción de levadura. El licor prensado se diluye conteniendo no más que 1% de azúcares totales, dándose una alta producción de levadura y una propagación más rápida (KESTERSON, 1989).

Luego del pretratamiento descrito anteriormente, según KESTERSON (1989) en la técnica de aprovechar los carbohidratos contenidos en los desechos de cítricos, dirigida a la producción de proteína unicelular, el licor prensado es pasado por mallas para remover insolubles, siendo después pasteurizado a 200°F y transportado a el propagador de levadura, al cual se le adiciona los nutrientes necesarios para el crecimiento, una fuente de nitrógeno y fósforo. Para un crecimiento favorable de levadura un pH entre 4-5 es mantenido por adición de una solución de amoníaco. Un serpentín enfriador está puesto en el fondo de el propagador para mantener una temperatura de aproximadamente 96°F, tubos de aireación suministran una corriente de aire continua para mantener un crecimiento rápido de levadura, desde 500 a 1200 pies cúbicos son necesarios para producir 1 lb de levadura, el tiempo de crecimiento es entre 3-4 horas. La suspensión de levadura se concentra a un 10-15 % de sólidos y pasada finalmente por un secador.

Una producción del 60% se obtiene cuando el licor prensado es diluido con dos volúmenes de agua y 33% de producción con licor prensado. Esto es equivalente a 20-36 lbs. de levadura por 1000 lbs. de licor prensado a 10 Brix. La composición de la levadura seca obtenida se reporta como 55.3% de proteína, 1.3% de humedad y 8% de ceniza, 18% de celulosa (KESTERSON, 1989)

En la producción de proteína unicelular los desechos vegetales así como los desechos de frutas, constituyen una materia prima importante, con relación a esto, en El Salvador se realizó la producción de la levadura Candida utilis a partir del jugo de desechos vegetales (Guerrero y Aguilar, 1992).

De acuerdo a Guerrero y Aguilar (1992), el proceso para la producción de Candida utilis a partir de desechos vegetales consta de 5 etapas:

1. Obtención del jugo a partir de desechos vegetales. En esta etapa se realiza una limpieza manual a la materia prima, con el objeto de eliminar partículas inadecuadas como piedra, plástico, etc. El material seleccionado se lava con agua clorada y agua potable; después de este lavado, se reduce de tamaño, se prensa para extraer el jugo y finalmente se pasteuriza.
2. Preparación del sustrato. El jugo de desechos vegetales se

obtiene con diferentes contenidos de azúcares reductores, por lo que se realiza una dilución que indique una concentración mayor que 6.1% (p/p).

3. Producción de Candida utilis. El fermentador se inocula con células de Candida utilis y las condiciones de fermentación son: Aireación: 6.25 lt de aire por minuto para 0.8 lt de substrato, agitación magnética, temperatura de 30 - 32 °C, pH=4.6, con respecto a los nutrientes se reporta que el jugo de desechos vegetales contiene lo necesario para el crecimiento de la levadura Candida utilis.
4. Recuperación y lavado de la levadura. En esta etapa se separa la levadura del substrato por centrifugación y se realiza 3 lavados con agua destilada; después de cada lavado se centrifuga para eliminar residuos del substrato.
5. Secado y empaçado de la levadura.

En la producción de Candida utilis a partir del jugo de desechos vegetales un rendimiento de 11.15 gr de levadura seca por litro de substrato y un análisis químico de la levadura constituido de 45.2% de proteína, 4.1% de grasa, 6.6% de fibra, 6.3% de cenizas, razón por la cual se puede destinar para consumo humano. El residuo sólido generado por la extracción del jugo, se seca al sol, se analiza químicamente reportando un 11.3% de

proteína y 6.9% de cenizas de tal manera que se recomienda utilizar como materia prima para forraje animal (Guerrero, 1992).

3.2 PRODUCCION DE JARABES ALIMENTICIOS A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

La lactosa de la leche es de valor nutritivo para el hombre; sin embargo, el consumo excesivo de la lactosa a una concentración aproximada de 70% produce diarrea, malestar físico, y posibles daños intestinales. Precisamente, mediante la biotecnología se propone una alternativa para su uso en la producción de jarabes, técnica que ofrece dos ventajas, primero, es un proceso que hidroliza la lactosa a monosacáridos, lo cual ayuda a prevenir dichos problemas y segundo es una utilización más que incrementa el aprovechamiento de los azúcares presentes en el suero (BRADDOCK, 1979).

La hidrólisis de la lactosa en el suero se produce mediante la enzima, B- galactosidasa llamada también Lactasa; algunas de las funciones de esta enzima es que aumenta la digestibilidad de los productos lácteos ya que hidroliza la lactosa a monosacáridos resultando de beneficio para la digestión, incrementa la utilización del suero, y reduce la cristalización de la lactosa en productos lácteos concentrados. La lactasa a partir desde Kluyveromyces lactis es usada para tratar la leche y el suero dulce de queso porque las condiciones óptimas del proceso son

cercanas a la temperatura y pH naturales de la leche 30°C a 40°C y pH 6.6 a 6.8. La lactasa a partir de Aspergillus niger es usada para tratar suero ácido porque sus condiciones óptimas del pH 3.5 a 4.5 son cercanas a las del suero ácido (BRADDOCK, 1979).

La hidrólisis de la lactosa en el suero ácido por B-galactosidasa a partir de Aspergillus niger, seguido por una desproteínización, una desmineralización y una concentración subsecuente a temperaturas bajas, da una producción de jarabes alimenticios de características diferentes. Estos jarabes alimenticios contienen 70-75% de sólidos y son usados como una fuente de proteínas, como un dulcificante en helados y productos de cervecería, etc. Además permite que el suero sea utilizado para alimentación de cerdos y ganado (WIERZBICKI, 1972).

La metodología utilizada para la producción de estos jarabes es reportada por WIERZBICKI (1972), en este proceso se utiliza como medio suero ácido líquido fresco o polvo de suero ácido hidratado. Las condiciones de operación son pH=4.5 y 55°C y una concentración de enzima de 400 mg/litro que se usa en el suero ácido líquido o en polvo hidratado conteniendo 40 a 50 mg/ml de lactosa. Como resultado de la hidrólisis, el 90% de la lactosa es convertida a glucosa-galactosa. El producto hidrolizado con la proteína intacta es concentrado aproximadamente a 70% de sólidos totales para producir un jarabe amarillo concentrado (pH=4.6)

cuya composición es mostrada en el cuadro 3.2. Para producir un jarabe desproteínizado de suero ácido se utiliza el suero ácido hidrolizado, el cual es calentado a 90°C por 5 min a pH=4.5 para precipitar sobre 60 ó 70% de la proteína del suero. La proteína es removida por centrifugación y se produce un jarabe aproximadamente a 70% de sólidos totales (pH=5.6) mostrando una apariencia transparente dorada y dulzura agradable, su composición es mostrada en el cuadro 3.2.

Para producir un jarabe desproteínizado y desmineralizado de suero se utiliza el suero hidrolizado calentado a 90°C y un pH=4.5 por 5 min para ser enfriado a 25°C y simultáneamente tratado con hidróxido de sodio a pH=9.0 para la precipitación de proteínas y minerales. La proteína con los minerales son remo-

CUADRO 3.2 ANALISIS PROXIMAL DE JARABES A PARTIR DE SUERO DE QUESO.

Tratamiento	% Carbohidratos	% Proteína	% Ceniza	Ca	P	pH	Sabor
Jarabe con lactosa concentrada e hidrolizada	50	8.0	8.2	1.2	0.7	4.7	Suero Dulce
Jarabe desproteínizado a pH=4.5 y 90°C	65	1.6	9.3	1.2	0.73	5.6	Dulce
Jarabe desproteínizado y desmineralizado	55	3.4	1.6	0.07	0.09	6.9	Dulce

Ref. Wierzbicki (1992)

vidas por centrifugación por 10 min. a 5,000 rpm. El suero desproteínizado y desmineralizado es reajustado a un pH neutro por un intercambio de ión con Dowex-50 o ácido láctico y luego concentrado a temperatura baja (WIERZBICKI, 1982).

La resolubilización de la proteína precipitada se evita cuando la fracción de la proteína precipitada a pH=4.5 es removida a partir del sistema pero antes ajustando a pH=9.0 para la precipitación de la proteína.

De acuerdo a los resultados de composición química se observa que los jarabes son ricos en carbohidratos, siendo el jarabe desproteínizado el de mayor riqueza.

En cuanto a los usos, estos jarabes alimenticios se mezclan individualmente con otros materiales alimenticios básicos para la producción de yogurt, jugos de frutas nutritivos, y pudines, etc. La elección de cada jarabe depende del sabor, color, costo del nutriente y el tipo de formulación del alimento (WIERZBICKI, 1972)

3.3 PRODUCCION DE HIDROCOLOIDES, A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

Definida de una manera práctica y funcional, una goma o hidrocoloide es un material polimérico que puede disolverse o

disponerse en agua para formar soluciones, suspensiones viscosas o geles. Las gomas se pueden obtener de varias fuentes. Entre las naturales se destacan: los exudados de plantas, los extractos de algas marinas, semillas, cereales, los animales, y las de origen microbiano. Las gomas obtenidas mediante procesos microbianos tienen ciertas ventajas respecto a las que se extraen las fuentes naturales como las algas o plantas. En primer lugar su producción no depende de de condiciones climáticas, contaminación marina o limitaciones en las cosechas. Por otra parte los productos son menos susceptibles o varían en su calidad y su producción, pueden ser controlada cuidadosamente en unidades industriales (GALINDO, 1988).

Aunque los polisacáridos microbianos no han desplazado del mercado a otros hidrocoloides de bajo precio; como los almidones, las gomas microbianas especialmente la goma xantana ha logrado la captación de un mercado importante y ya se empieza a considerar para variadas aplicaciones. La xantana es sin duda, el polisacárido microbiano que más éxito comercial ha logrado en el mercado internacional de hidrocoloides. Esta goma es producida por la bacteria Xanthomonas campestris, y es un polímero. Esta estructura le confiere características reológicas y de estabilidad muy superior a otras gomas (GALINDO, 1988)

Las gomas microbianas representan técnicas para aprovechar las riquezas no utilizadas de algunos residuos por ejemplo el

suero, que es rico en azúcares (lactosa), siendo este tipo de substrato, el medio empleado en la producción de la goma Xantana de acuerdo a investigaciones realizadas por Galindo (1988).

Los efluentes de la industria alimentaria poseen un alto porcentaje de nutrientes potencialmente comercializables pero, a veces, de difícil recuperación. Por ejemplo, el alto contenido de lactosa y bajo pH del suero ácido generado en la producción de queso "cottage" limitan su aprovechamiento. El Lactobacillus plantarum 304 es capaz de utilizar la lactosa del suero ácido y producir un polisacárido sin necesidad de modificar el medio (pH=4.3). Esta fermentación se lleva a cabo a 35°C y pH=4.35 y un medio suero esterilizado. Este hidrocoloide tiene características pseudoplásticas y emulsificantes (MARTINO, 1991).

3.3.1 PRODUCCION DE LA GOMA XANTANA, A PARTIR DE SUERO DE QUESO.

El proceso general para la producción de la goma xantana es reportada por Galindo en 1988 y cuyo proceso se describe como sigue:

La goma xantana es producida mediante el cultivo de la bacteria Xanthomonas campestris, esta cepa es mantenida en sales a 4°C. este medio de cultivo sembrado contiene (g/litros): glucosa 10; pectona 5; extracto de levadura 3; extracto de malta 3.

A nivel industrial el cultivo de Xanthomonas campestris se lleva a cabo en grandes fermentadores agitados mecánicamente, con suministro continuo de aire estéril. El medio de cultivo consiste de una fuente de carbono (glucosa o sacarosa son las más usadas), una de nitrógeno y una de fósforo, además de ciertos elementos minerales en pequeñas cantidades. El medio de cultivo y el propio fermentador deben ser cuidadosamente esterilizados. En vista de que la producción de esta goma es muy sensible al pH, éste debe ser controlado a valores cercanos a la neutralidad.

El cultivo se efectúa en un fermentador de 25 dm³ con un volumen de trabajo de 18 dm³ (150 litros), las condiciones de operación son a 200-800 min, 1 vvm, y 29 ± 1°C. El pH se controla (con KOH 2N y H₂SO₄ 2N) entre 6.95 y 7.05. El fermentador se inocula con 10% (v/v) de un cultivo 48 horas.

El medio reportado por Galindo (1988) tiene la siguiente composición (en Kg/m³): glucosa 24; NH₄NO₃, 0.63; MgSO₄, 0.23; ácido cítrico 1.3; KH₂PO₄, 3.9; CaCO₃, 0.0024; H₃BO₃, 0.0048; ZnO, 0.0072; FeCl₃, 0.0014.

Una vez concluida la fermentación, lo que sucede en un lapso de entre 48 y 95 horas, el caldo se esteriliza con el fin de destruir al fitopatógeno y mejorar las características reológicas de la goma en solución. Posteriormente el caldo se enfría y la Xantana se recupera mediante precipitación con alcohol etílico o

isopropílico, seguido del secado, molido y el empaque. Usualmente, la concentración final que se logra es de 20 y 30 g/l con un rendimiento sobre azúcar que oscila entre 50 y 70%.

Las aplicaciones de la goma Xantana en la Industria Alimentaria son muy amplias. Las principales, características que se incluyen en el uso de la goma Xantana son la viscosidad, textura, capacidad de suspensión de sólidos y la estabilidad de emulsiones. Puesto que la Xantana se dispersa en agua fría o caliente se usa en la producción de alimentos secos de preparación instantánea, los cuales una vez reconstituidos presentan la textura deseada (sopas instantáneas, salsas, etc). La capacidad de retención de agua de la Xantana es de especial importancia en la preparación de rellenos para pastelería. La resistencia de la goma al pH ha permitido su empleo en salsas y productos lácteos acidificados. La alta estabilidad de la Xantana al congelado-descongelado, ha hecho a ésta un aditivo muy útil en helados, donde controla la sinéresis y proporciona una agradable textura al producto final, empleándose además en muchas aplicaciones más (Galindo, 1988).

3.3.2 PRODUCCION DE GOMA GELANA A PARTIR DE SUERO DE QUESO.

La goma gelana es también manufacturada por una fermentación con un cultivo de Pseudomonas elodea en un medio de carbohidra-

tos, por lo tanto constituye una propuesta para aprovechar el suero (DIEZAK,1990).

Esta goma puede proveer un rango de textura tan opuesto a una simple características de textura. La goma gelana necesita ser calentada para disolverse y requiere cationes para provocar gelación a las soluciones frías. Para controlar la concentración de los cationes la gel obtenida puede ser diseñada para ser termoreversible o estable a réplicas de temperaturas. La gel puede estar fija a temperaturas desde 20°C a 50°C, y disolverse a temperaturas desde 65°C a 120°C. La estabilidad a los ácidos y a calentarse también caracteriza a la goma gelana, esta tiene aplicación en la Industria de pastelería, láctea, etc. (DZIEZAK, 1990).

3.4 PRODUCCION DE ALCOHOL ETILICO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

El alcohol Industrial es empleado extensamente como un solvente, como materia prima para síntesis química. Además se emplea para mezclarse con combustible de motor tal como la gasolina (Casida, 1978). En la producción de alcohol etílico, los substratos que pueden ser aprovechados por su contenido de azúcares fermentables y se derivan de desechos de la industria de alimentos son, el suero de queso generado en la industria láctea y los desechos de la Industria de Frutas y verduras (cáscaras,

semillas, etc).

3.4.1 PRODUCCION DE ALCOHOL ETILICO A PARTIR DE DESECHOS CITRICOS.

Estos desechos provienen de la manufactura de las frutas cítricas y son ricos en carbohidratos, por esa razón son utilizados como sustratos en estas fermentaciones. Es importante mencionar que los residuos sólidos, es necesario aplicar un pretratamiento descrito en la sección 3.1.3.

En la producción de alcohol etílico las cepas que comúnmente se utilizan son Saccharomyces cerevisiae, S. carlsbergensis, S. fragilis, S. ellypsoideus y generalmente representan 2-5% del volumen de reactor. Como medio se utiliza sacarosa o glucosa, es decir, un medio rico en azúcar y con una concentración entre 13-18%. Con una adición de otros nutrientes como sulfato de amonio, fosfato, etc. En el fermentador las condiciones de operación normalmente son temperatura: 30-35°C, pH=4.5-5.5, tiempo: 24-36 horas, semiaeróbico. Después de la fermentación, el caldo fermentado más la levadura se centrifuga para separar la levadura, obteniéndose el caldo fermentado, el cual se destila produciendo normalmente un 94% de azúcares consumidos, por lo tanto la concentración del alcohol oscila entre 94-95%. Este proceso general de producción de alcohol a partir de desechos ricos en carbohidratos es reportado por Litchfield (1987).

3.4.2 PRODUCCION DEL ALCOHOL ETILICO A PARTIR DEL SUERO DE QUESO

Alberú (1987) reporta la siguiente metodología para obtener alcohol etílico a partir de diferentes substratos ricos en azúcares fermentables, el proceso consta de 2 partes fundamentales:

1. Fermentación. Previo a la fermentación el medio (suero de queso) se pasteuriza para que la inoculación sea favorable, y los microorganismos utilizados pueden ser: Sacharomyces fragilis, Saccharomyces cerevisiae, etc., además de la fuente de azúcares fermentables, se requieren otras materias primas auxiliares en el proceso de elaboración de alcohol etílico como son las siguientes:
 - Sales nutritivas: La levadura requiere para cumplir sus funciones vegetativas y enzimáticas fuentes de nitrógeno y fósforo, las cuales son suministradas en forma de urea y ácido fosfórico.
 - Acido sulfúrico: utilizado por sus propiedades bactericidas y para ajuste de pH.
 - Antiespumante: se utiliza para reducir la formación de espuma.

Las condiciones de fermentación son: concentración del medio 10-18%, pH=4-5, temperatura=30-35°C, semiaeróbico, tiempo de

fermentación 2-3 días.

2. Destilación. Previo a la destilación se centrifuga para separar la levadura y proseguir con la destilación, en esta etapa se utilizan reactivos para remover algunas impurezas del alcohol; los más utilizados son el bisulfito, el carbonato de sodio y el permanganato de potasio. En esta etapa se utiliza además un agente deshidratante que es un compuesto que forma mezcla azeotrópica ternaria de mínimo punto de ebullición con el etanol y el agua, facilitando la separación del agua y del alcohol rectificado, el más utilizado es el n-hexano.

De acuerdo a Alberú (1987) se obtiene una concentración de alcohol etílico de 93.2%.

3.5 PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.

Esta técnica biotecnológica se refiere a la producción de ácido láctico a partir de cáscaras, semillas, y otros residuos de las frutas cítricas, mediante una fermentación conducida a 45°C en presencia de nutrientes y carbonato de calcio en excesos con el objeto de neutralizar continuamente al ácido formado. El microorganismo utilizado es un Lactobacillus aislado a partir del jugo de toronja fermentado el cual logra un 90% de eficiencia en

la conversión de azúcares presentes en estos residuos a ácido láctico, en período de 4 1/2 a 5 días (KAGAN, 1960).

KAGAN reportó un proceso de producción de ácido láctico a partir de residuos cítricos, que se resume en las siguientes etapas.

- .- Pretratamiento a el substrato utilizado. El jugo de las cáscaras cítricas es ajustado a un pH=6.0 por la adición de ácido fosfórico, luego se filtra para remover sólidos insolubles; si se utilizan las melazas cítricas se diluyen en agua a una densidad Brix aproximadamente de 13, ajustándose a un pH=6.0 con una solución 10% de fosfato de sodio y por último se filtra.

- .- Preparación de levadura mediante el proceso de licuefacción utilizada en el medio de cultivo para el crecimiento del microorganismo lactobacillus. En la preparación de levadura licuada se utiliza 1 kg. de levadura pulverizada y se licúa con 100 ml de acetato etílico en un cuarto frío. Después de completa la licuefacción, la mezcla se agita mecánicamente por 1 hr. durante este tiempo se mantiene a un pH neutral, por la adición de una solución 10% de fosfato de sodio luego se mezcla vigorosamente con 80 ml de tolueno y se incuba a 35 por 24 hrs. la levadura licuada se clarifica por la adición de clara de huevo, calentada a vapor por 30 min. y

la mezcla se filtra en caliente a través de un embudo. El extracto se concentra a vapor a una densidad Brix de 25 y finalmente se almacena en un refrigerador.

- .- Preparación del medio de cultivo para el crecimiento del microorganismo lactobacillus. El medio de cultivo en donde crece el lactobacillus se mantiene en un agar nutritivo compuesto de glucosa (2%), peptona(0.5%), levadura licuada (10% v/v), y agar (1%). Porciones de 10 l se vierten en tubos de ensayo conteniendo una pizca de carbonato de calcio, tapados con algodón y esterilizada a 15 lbs por 20 min Estos medios de cultivos se utilizan para el crecimiento de lactobacillus que es fácilmente detectado por la claridad de el medio. Los cultivos se incuban a 45°C hasta un buen crecimiento ocurrido aproximadamente entre 18 a 24 hrs.

- .- Aislamiento de el microorganismo lactobacillus. El aislamiento del cultivo lactobacillus se da de la siguiente manera, 1 ml de jugo de toronja espontáneamente fermentado se adiciona a 10 l de solución de glucosa (medio de cultivo con y sin agar), y se incuba por 24 hrs a 45° C. En repetidos cultivos se obtiene un organismo típico de lactobacillus, éste se aísla a un cultivo puro; en éste se obtiene colonias blancas, redondas y elevadas, una examinación microscópica reveló cadenas de 4 a 5 unidades.

- .- Preparación del medio de cultivo para la fermentación. Este medio contiene 230 ml de jugo de cáscaras, 50 ml de levadura de 10 ml de esta solución se colocan en tubos de ensayo conteniendo un exceso de carbonato de calcio, tapados con algodón , y esterilizados a 15 lbs. por 20 min.

- .- Preparación de nutrientes para la fermentación. Un nutriente utilizado en la fermentación se prepara con cierta cantidad de desecho de tomate, estos son macerados y filtrados a través de un embudo. El extracto se concentra a una densidad Brix de 15 y almacenado en un refrigerador.

- .- Fermentación. En el proceso de fermentación, el cultivo con transferencia del lactobacillus es usado para inocular 10 ml del medio de jugo de cáscara y levadura licuada, conteniendo un exceso de carbonato de calcio. Después de 24 hrs. de incubación, aproximadamente 2.6% de ácido láctico se forma que es el 50% de la teoría máxima basado en el total de azúcares presentes originalmente. Este crecimiento vigoroso se usa para inocular 100 ml del medio, contenido en un fermentador de 200 ml, el medio de fermentación es esterilizado, enfriado, equilibrado a 45°C antes de la adición del inóculo. Exceso de carbonato de calcio es adicionado antes de la esterilización, agitación intermitente es realizada, el pH permaneció en 5.7 +/- 0.1. En la fermentación se adicionan diferentes tipos de

nutrientes, los resultados del comportamiento se muestran en el cuadro 3.3, de ésta se observa que, con la adición de levadura licuada y brotes de malta da una mejor producción de ácido láctico.

La adición de levadura es más eficiente que los brotes de malta en estimulación inicial de fermentación; sin embargo, después de 3 a 4 días, la producción fue compatible. El extracto de tomate estimula la velocidad inicial de fermentación pero no como la adición de levadura y los brotes, aunque la producción al cabo de 6 días se aproxima mucho, ver recuadro 3.3, (Kagan, 1960).

CUADRO 3.3 PRODUCCION DE ACIDO LACTICO A PARTIR DE RESIDUOS CITRICOS.

Total de azúcar g/100ml	Nutrientes	Tiempo de Fermentación	Azúcares residuales g/100 ml	Acido Láctico g/100ml	% de Fermentación
8.00	10% de Esporas de malta	4	0.52	7.02	87.8
7.60	10% de Levadura Autolysate	4	0.50	6.66	87.6
7.60	10% de Extracto de Tomate	4	1.00	6.40	84.2
10.95	10% de Esporas de Malta	4	1.88	8.92	81.2
10.83	10% de Esporas de de Malta	4	1.85	8.25	76.2

Ref. Kagan (1960)

CAPITULO IV

APLICACIONES POTENCIALES DE LA BIOTECNOLOGIA PARA EL
APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA
DE ALIMENTOS EN EL SALVADOR.

De acuerdo a los resultados de este estudio, a los residuos de la industria de alimentos seleccionadas y al planteamiento de técnicas biotecnológicas, con el objeto de aprovechar la riqueza de los residuos (líquidos y sólidos); se analizó el uso potencial de éstos que podría contribuir finalmente a minimizar problemas de contaminación y a la vez al desarrollo de El Salvador, mediante la búsqueda de fuentes de alimento humano y animal, una motivación para diversificar la industria de alimentos.

Este uso potencial se plantea de la siguiente manera:

- .- La disponibilidad de volumen de suero evaluada, es de aproximadamente de 2,460 Ton/anual de suero de queso (cuadro 2.8) originado en la industria láctea, constituiría una materia prima para estudios planteados, tales como la producción de goma xantana y producción de jarabes.

En la producción de goma xantana (Galindo 1988) reporta un rendimiento entre 50 y 70% en base al peso de azúcar presente (sección 3.3.1), si se relaciona este rendimiento, con la composición química del suero líquido (cuadro 2.9),

el cual posee 5% de carbohidratos y estos 65% de lactosa, se dispondría de una cantidad aproximada de 80 Ton/anual de lactosa, para producir entre 40 y 56 Ton/anual de goma xantana.

Si la totalidad del suero se destinara a la producción de jarabes, según Braddock (1979) se tiene un rendimiento de alrededor de 90% en base al peso de azúcar presente, si se utiliza los datos de composición química del suero líquido anteriormente mencionados se dispondría de 80 Ton/anual de lactosa, para producir 72 Ton/anual de jarabe (mezcla de glucosa y galactosa). Es importante aclarar que este nivel de producción es en base a las 7 empresas lácteas evaluadas en este estudio (cuadro 2.1), por lo que habría que hacer estudios técnico-económicos completos para definir la factibilidad de los proyectos mencionados.

- .- La disponibilidad de los residuos sólidos de las frutas y verduras en El Salvador es muy alta, debido que, además de los residuos generados por las industrias, se cuenta con los desechos vegetales en mercados reportándose de estos últimos que sólo para la zona metropolitana se genera un promedio de 18 Ton/día (Guerrero y Aguilar, 1992), además, según este estudio para las industrias evaluadas se dispone aproximadamente de 26,029 Ton/anual de residuos de frutas y verduras (cuadro 2.8). Por lo que éstos residuos se convier-

ten en una fuente importante de materia prima para diversos proyectos de investigación con aplicación de la Biotecnología, para el caso se plantea la producción de ácido láctico a partir de residuos de cítricos y proteína unicelular a partir de jugos de frutas y verduras ricas en glucosa principalmente.

Para el aprovechamiento de los mismos habría que generar una información más completa de la naturaleza de esos residuos.

OBSERVACIONES

- 1- De acuerdo al estudio realizado del grado de contaminación generado por las aguas residuales de las industrias de alimentos, es una situación preocupante debido a el alto grado de contaminación obtenido por lo que, es necesario reconsiderar las opciones biotecnológicas disponibles y no limitarse sistemáticamente a los procesos convencionales.
- 2- Dado que en El Salvador, un país agroindustrial, se cultiva y se procesa en forma intensiva la materia prima de la industria de alimentos, los subproductos (residuos) de dicha actividad son substratos adecuados y potenciales, para proyectos de investigación biotecnológica.
- 3- La biotecnología es una alternativa que contribuye al desarrollo de la producción industrial ofreciendo oportunidades en el uso potencial de aprovechamiento para la solución de problemas con mayores posibilidades de generar aprovechamiento y ganancias.
- 4- La Biotecnología aplicada al tratamiento anaeróbico dirigido a las aguas de descarga de la industria de alimentos, no se incluyó en esta investigación debido a que, es un campo de tratamiento muy amplio, sin embargo, se motiva a plantear el uso de estas técnicas biotecnológicas para descargas líquidas principalmente.

CONCLUSIONES

- 1- De acuerdo a lo planteado en el capítulo IV se puede concluir que la aplicación de la Biotecnología dirigida a los residuos de la industria de alimentos es factible por la naturaleza de los mismos, encontrándose alternativas que aprovechan su riqueza potencial generando productos de un gran valor nutritivo.

- 2- Con respecto a las aplicaciones biotecnológicas "Producción de goma xantana" y "Producción de Jarabes", son proyectos técnicamente factibles, donde se aprovechan los carbohidratos del suero de queso (Galindo, 1988; Braddock, 1979). De igual manera, "la producción de ácido láctico" convierte los azúcares contenidos en los residuos sólidos de frutas y verduras, sin embargo, para el caso de El Salvador será necesario hacer estudios de factibilidad tanto técnica como económica en forma completa.

RECOMENDACIONES

- Motivar al planteamiento y elaboración de proyectos de investigación biotecnológica, encaminados a minimizar problemas de contaminación de la industria de alimentos.

- En el Salvador la industria láctea y de frutas y verduras constituyen una fuente importante de producción, por ello, sería conveniente hacer del conocimiento a estas industrias, del uso potencial de sus residuos planteado en el presente trabajo.

- La fuente de proteínas que proporciona la sangre del animal, un residuo de la industria cárnica, es aproximadamente más del 80% del peso de la sangre (cuadro 2.10), de tal manera que se recomienda investigar proyectos biotecnológicos que aprovechen esta riqueza, debido que, no se cuenta con información suficiente al respecto.

- Se recomienda realizar estudio de los Aspectos Económicos y Factibilidad técnica de los proyectos planteados en el uso potencial de los residuos de la industria de alimentos, con el objeto de acondicionar los proyectos a la industria nacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ALBERU, C., (1987), "Técnicas de Extracción", Comercialización de Bienes y Tecnologías, Caracas, Venezuela.
- 2- APHA, American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of water and wastewater. 17a. Edición.
- 3- AYALA, M.D., (1993), Entrevista personal con el encargado de Control de Calidad de la Industria Diadema, mes de Marzo, Santa Ana, EL SALVADOR.
- 4- BOLANOS, I.A., (1993), Información proporcionada por el jefe de producción de la industria a Bon Appetit S.A., mes de noviembre San Salvador, EL SALVADOR.
- 5- CALDERON, C.B., (1987), "Estado Actual del Tratamiento de Desechos Industriales en El Salvador", Trabajo de Graduación para optar al Título de Ingeniero Químico, Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, EL SALVADOR.
- 6- CASIDA, L. E., (1978), "Industrial Microbiology", New York, USA.

- 7- CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA, (CATIE), (1991), "Métodos de Análisis Rutinarios", Costa Rica.
- 8.- CENTRO DE DESARROLLO PESQUERO, (1985-1991), "Anuario Pesquero", Ministerio de Agricultura y Ganadería, EL SALVADOR
- 9- DIRECCION GENERAL DE ESTADISTICAS Y CENSOS, (1985-1991), "Avance Estadístico", Ministerio de Economía, EL SALVADOR
- 10- DUCKWORTH, R.B.,(1978),"Frutas y Verduras", Editorial Acribia, España.
- 11- DZIEZAK, D, I., (1990),"Gellan Gum Receives.", Food Technology, Vol. 44 No. 11. USA.
- 12- ESTEVEZ, M., (1993), Entrevista personal con el gerente de Dirección General de Estadística y Censos, mes de Noviembre.
- 13- FEDEPRICAP, (1988), "Oportunidades de las Biotecnologías Agropecuarias en América Central", IICA, San Pedro Sula, Honduras.
- 14- GALINDO, F. E., (1988), "Goma Xantana", boletín CEPLACEA Vol. 5 No. 9 USA.

- 15- GOMEZ, R.M., (1982), "Problemas Ambientales en El Salvador un Enfoque de Ingeniería Química", Trabajo de Graduación para optar el título de Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de El Salvador, EL SALVADOR.

- 16- GUERRERO, R.M., M.A. Aguilar, (1992), "Producción de Candida utilis en Jugo de Desechos Vegetales de Mercado", Trabajo de graduación para optar al Título de Ingeniero Químico, Universidad de El Salvador, El Salvador.

- 17- HOLLO, J.,(1982), "Food Industries And the Environment. Developments in Food Science" No.9, publishing company, Hungary.

- 18- KAGAN, I., AND P.W., (1960), "Lactic Acid Production by Fermentation of Citrus Peel Juice", Agricultural and food chemistry, Vol.8 No.3 USA.

- 19- KESTERSON, I., W., (1989) " Utilitation of Citrus de Products. "Agricultural Experiment Station Journal Series, No., 727, USA.

- 20- LITCHFIELD, J. H., (1987), "Microbiological and Enzymatic Treatments for Utilizing Agricultural and Food Processing Wastes", Food Biotechnology, USA.

- 21- MAGAÑA, F., (1993), Información proporcionada en el rastro municipal de Santa Ana, mes de febrero, Santa Ana, El Salvador.
- 22- MARCHIANI, D., (1971), "Mataderos Industriales", Editorial El Globo, 2a. Edición, Venezuela.
- 23- MARTINO, M., (1991), "Producción y Aspectos Fisicoquímicos de un Hidrocoloide Obtenido por Fermentación en Sistema Modelo y Suero Acido de Leche con Lactobacillus plantarum." Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos, Vol. 31 No. 3. Oregon State University, USA.
- 24- McDOWELL, L., (1974), "Latin American Tables of Food Composition", Center for Tropical Agriculture, USA.
- 25- MERLOS, T. (1993), Información proporcionada por la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados (ANDA) Sección norte, mes de noviembre, San Salvador, El Salvador.
- 26- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA, (1985-1991), "Anuario de Estadísticas Agropecuarias", Dirección General de Economía Agropecuaria, El Salvador.
- 27- REPETTO, G., (1991), "Apuntes sobre las Aguas negras", El Salvador.

- 28- REVILLA, A. (1985), "Tecnología de la leche, procesamiento manufactura y análisis", ITCA, Costa Rica.
- 29- ROSALES, A.D., (1993), Entrevista personal con el asesor técnico de la Biología Pesquera, mes de marzo, San Salvador, EL SALVADOR.
- 30- SAMAYDA, L.M., (1993), Entrevista personal de la Industria Sello de Oro, mes de Agosto, Santa Ana, El Salvador.
- 31- WASSERMAN, E., (1991), " Whey utilization. Growth de Sacharomyces fragilis in whey in a Pilot Plant. Journal of Dairy Sciency, Vol. 44. USA.
- 32- WIERSBICKI, L.E., (1972), "Food Syrups From Acid Whey Treated With B-galactodidase of Aspergillus niger", Journal of Dairy Science, Vol. 56 No. 9. New York, USA.

A N E X O S

ANEXO A

CLASES Y TIPOS GENERALES DE CONTAMINACION

1.0. CLASES Y TIPOS DE CONTAMINACION

Las clases de contaminación en base al medio de transporte se clasifican en contaminación gaseosa, del agua y del suelo.

a) Contaminación gaseosa: El medio de transporte es el aire, en esta clase de contaminación los tipos de contaminantes se pueden clasificar de la siguiente manera:

- i) Partículas sólidas y líquidas en suspensión. Entre los contaminantes sólidos podemos mencionar: Humo, hollín, cenizas, polvo natural, polvo de procesos industriales, etc., y entre los líquidos tenemos, las nieblas de ácido sulfúrico formado por la oxidación del anhídrido sulfuroso.
- ii) Gases y vapores: Por ejemplo, anhídrido sulfuroso, monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno, hidrocarburos, etc,

b) Contaminación del agua: El medio de transporte es el agua, cuando se refiere a los tipos de contaminantes; se pueden mencionar: Contaminantes fecales, Material inerte en suspensión,

Aceites libres y emulsionados, Sustancias orgánicas no naturales, Sales disueltas, tóxicas o nocivas, Acidos y bases fuertes, Calor.

c) Contaminación del suelo: El medio de transporte es la tierra, entre los tipos de contaminantes de esta clase de contaminación se encuentran: Restos de animales, Cenizas (residuos de incineración de ciertos combustibles), Excrementos de animales, Animales muertos, Residuos domésticos, Desechos industriales.

ANEXO B.

MARCHAS DE LABORATORIO PARA EVALUACION DE LOS PARAMETROS
DE CONTAMINACION AMBIENTAL DE AGUAS DE DESECHO.

B.1 METODO PARA DETERMINAR LA TEMPERATURA.

La medición de este parámetro es ejecutado mediante un termómetro de precisión y está expresado en grados centígrados ($^{\circ}\text{C}$) o grados Fahrenheit ($^{\circ}\text{F}$).

B.2 METODO PARA DETERMINAR pH

Se mide mediante al potenciómetro y cuando se necesita una menor precisión se puede utilizar tiras de papel litmus o tornasol.

La determinación del pH en aguas de desecho es muy importante ya que la alteración de éste, en el ecosistema causa la muerte de peces y puede esterilizar una corriente natural.

I- Material y Equipo Utilizado.

- Potenciómetro.

II- Reactivos.

- Agua destilada.
- Solución patrón de pH = 7

III- Procedimiento.

- Calibrar el potenciómetro con la solución patrón.
- Lavar los electrodos con agua destilada y limpiarlos con papel suave.
- Introducir los electrodos a la muestra para leer pH.

B.3 DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (D.B.O.)

Este parámetro mide el oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en presencia de microorganismos capaces de efectuar la oxidación. El método utilizado es el Método de Dilución.

I- Material y Equipo Utilizado.

- Bureta graduada de 100 ml.
- Probeta de 100 ml.
- Pipetas de Mohr de 10 ml.
- Erlenmeyer de 250 ml.
- Frascos Winkler de 300 ml.
- Beakers de 600 ml.
- Beakers de 600 ml.
- Garrafa de 20 litros.
- Fuente de aireación.

II- Reactivos y soluciones.

- Agua destilada exenta de CO₂
- Soluciones de nutrientes: solución buffer de fosfatos,

solución de sulfato de magnesio, solución de cloruro de calcio, solución de cloruro férrico.

- Solución de sulfato manganoso.
- Solución de álcali yoduro azida.
- Acido sulfúrico concentrado.
- Solución indicadora de almidón.
- Solución valorada de tiosulfato de sodio 0.025 N.
- Solución valorada de biyodato de potasio.
- Solución preservadora de fluoruro de potasio.

III- Procedimiento.

Es de suma importancia que la muestra se analice tan pronto llegue al laboratorio para obtener datos confiables.

- Preparación del volumen del agua de dilución (agua destilada más nutrientes). Esta depende del número de muestras a tratar y del número de diluciones seleccionado para cada muestra, se recomienda un mínimo de tres diluciones; por cada muestra se requieren dos frascos Winkler lo cual debe ser considerado, de esta manera se calcula el volumen de dilución y se prepara en la garrafa de 20 litros. Adicionar 1 ml de cada una de las soluciones de nutrientes por cada litro de agua destilada; proceder a airear el agua por un tiempo aproximado de una hora.
- Toma de la muestra: agitar homogéneamente la muestra y en un Beaker tomar 500 ml.

- Neutralizar con ácido sulfúrico 1 N hasta un pH = 7
- Seleccionar las diluciones a realizar, medir los mililitros y transferirlos a los frascos Winkler (las diluciones que generalmente se realizan son 0.1%, 0.3%, 0.8%, 7 1%); recordar que cada dilución seleccionada requiere de dos frascos Winkler y en cada uno de ellos debe colocarse el mismo volumen de muestra.
- Aforar cuidadosamente con el agua de dilución eviando la formación de burbujas de aire.
- Llevar uno de los frascos de cada dilución a la incubadora por un periodo de 5 días a 20°C. Mientras que al otro se procede a fijarle el oxígeno disuelto inicial.
- Determinar el oxígeno disuelto:
 - a) Adicionar al frasco Winkler que contiene la muestra 2 ml de sulfato manganeso, asegurándose que la punta de la pipeta penetre en el agua.
 - b) Adicionar 2 ml de álcali-yoduro-acida del mismo modo que en el literal anterior; notará la formación de un precipitado color café lo que demuestra la presencia del oxígeno.
 - c) Tapar el frasco Winkler evitando la formación de burbujas de aire y agitar el frasco varias veces.

d) Dejar sedimentar el precipitado color café por aproximadamente 2 minutos y adicionar 2 ml de ácido sulfúrico concentrado agitando hasta total dilución del precipitado.

e) Titular de inmediato con la solución de Tiosulfato de Sodio 0,025 N usando solución de almidón como indicador; para realizar esto tomar 100 ml del frasco Winkler en un Erlenmeyer de 250 ml adicionar el tiosulfato hasta un color amarillo paja, agregar luego unas gotas de solución de almidón (vire a color azul), continuar titulado con tiosulfato hasta la primera desaparición del color azul formado, anotar el volumen del titulante formado.

- Transcurridos los 5 días de incubación a 20°C, determinar el oxígeno disuelto a las muestras cultivadas.

IV- Cálculos.

Concentración de oxígeno disuelto:

$$\text{ppm (O.D.)} = V_1 \times 2.03$$

donde :

V_1 = volumen de tiosulfato de sodio en ml.

Concentración de D.B.O.

$$\text{ppm (DBO)}_5 = (\text{OD})_1 - (\text{OD})_5 / P$$

donde:

(OD)₁ : ppm de oxígeno disuelto inicial.

(OD)₅ : ppm de oxígeno disuelto al 5 día.

P : % de dilución expresado en decimales.

B.4 METODO PARA DETERMINAR SOLIDOS SEDIMENTABLES.

El procedimiento es el siguiente:

1. Una cantidad medida de una muestra bien mezclada usualmente de un litro, se vierte usualmente en un cono de Imhoff y se deja reposar durante una hora.

2. Después de que la muestra haya estado reposando cuarenta y cinco minutos, hágase girar suavemente el cono, entre la manos para que se desprendan los sólidos que se hayan adherido a las paredes.

3. Déjese sedimentar quince minutos más.

4. Léase, con ayuda de las graduaciones, el volumen del material depositado, haciéndose ajustes por cualquier porción vacía del cono, bajo el nivel de los sólidos sedimentados.

Los resultados se expresan en ml. de sólidos por litro, sedimentados en una hora.

$$\text{ml de sólidos} \times \frac{1000}{\text{ml de muestra}} = \text{ml. de sólidos sedimentables por litro.}$$

B.5 METODOS PARA DETERMINAR SOLIDOS SUSPENDIDOS

Es la materia que puede ser retenida a través de un disco de fibra de vidrio después de una filtración y posteriormente secada a 105°C.

I- Procedimiento:

- Filtrar 50 ml de muestra a través de un crisol Gooch de peso constante y equipado con un disco de fibra de vidrio (P_1) de preferencia filtrar al vacío.
- Secar el crisol en la estufa durante un hora a 105°C luego enfriando y pesar (P_2).

II- Cálculos:

$$\text{ppm (SST)} = (P_2 - P_1) 10 / V$$

donde:

P_1 = Peso del crisol gooch vacío en g.

P_2 = Peso del crisol con residuo en g.

V_1 = Volumen de muestra para filtración, en ml.

B.6 DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO)

Las ventajas de este método, son su economía en el empleo de reactivos, pero si la muestra contiene sólidos, debe homogenizarse para obtener resultados reproducibles.

A. Material

- .- Tubos de borosilicato de 20 x 150 mm con cuello roscado y tapa recubierta de teflón.
- .- Equipo de filtración Millipore.
- .- Filtros Whatman GF\A de 5 cm de diámetro
- .- Estufa a 150°C
- .- Pipetas volumétricas
- .- Matraces erlenmeyer de 50 ml.
- .- Gradilla
- .- Matraz kitazato
- .- Guantes de asbesto

Soluciones

- 1.- Reactivo de ácido sulfúrico, añadir 10.12 g de Ag_2SO_4 , ya sea en cristales o en polvo (grado analítico) por cada litro de H_2SO_4 concentrado, esto da una proporción 5.5 g de $Ag_2SO_4/Kg H_2SO_4$. Para un garrafón de 3.5 litros de H_2SO_4 concentrado se requieren 35.42 g de Ag_2SO_4 . Permitir su disolución de 1 a 2 días, a temperatura ambiente.

- 2.- Solución estándar de dicromato de potasio 0.25 N Disolver 12.259 g de $K_2Cr_2O_7$, previamente secado a $103^\circ C$ por 2 horas, en 1000 ml. de agua destilada.
- 3.- Solución indicadoras de ferroína. Disolver 1.485 g de 1,10 - Fenantrolina monohidratada y 695 mg de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en 80 ml. de agua destilada. Aforar a 100 ml. Puede utilizarse el reactivo disponible comercialmente.
- 4.- Solución FAS (Sulfato Ferroso Amoniaco). Disolver 39.2 g de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en 600 ml. de agua destilada. Agregar cuidadosamente 20 ml de H_2SO_4 concentrado, enfriar y aforar a 1000 ml con agua destilada. Esta solución tiene una concentración aproximada 0.1 N, su concentración exacta se conoce cuando se titula el "blanco frío", el cual se corre junto con las muestras.

b.- Procedimiento

Como medida de precaución se recomienda utilizar guantes y lentes de protección cuando se adicionen los reactivos que contienen H_2SO_4 .

- 1.- Lavar previamente los tubos y tapones a utilizar con H_2SO_4 al 20% para evitar contaminación de las muestras. Para análisis subsecuentes lavar los tubos con agua de la llave y agua destilada, secar perfectamente antes de adicionar los reactivos.

- 2.- En un tubo de 16 x 150 mm, colocar 5 ml de muestra o de su dilución, adicionar 3 ml de la solución de dicromato, 5 ml de la muestra o de su dilución y con la punta de una espátula una pequeñísima porción de sulfato mercuríco.
En los blancos se adiciona agua destilada en lugar de la muestra, si se desconoce completamente la DQO de la muestra, se prueban diluciones 1:100 y 5:100 la dilución más recomendable será aquella que no cambie la coloración del dicromato.
- 3.- Adicionar cuidadosamente 7 ml del reactivo de ácido sulfúrico, permitiendo que resbale por las paredes internas del tubo. Si es necesario, colocar el tubo en un baño de agua fría para disipar el calor de la reacción.
- 4.- Cerrar herméticamente los tubos, invertir cada tubo varias veces para mezclar completamente y verificar que no hay fuga. en caso de haber fuga preparar otro tubo con la muestra correspondiente.
- 5.- Colocar los tubos en la estufa precalentada a 150°C, para permitir la digestión durante 2 horas.
- 6.- Preparar un tubo adicional que servirá como "blanco frío" para conocer la concentración exacta de la solución FAS.
Este tubo se prepara simultáneamente a las muestras, pero

las mantiene bien tapado a temperatura ambiente.

- 7.- Dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente, retirar las tapas y vertir su contenido en matraces.
- 8.- Enjuagar el tubo con un volumen de agua destilada igual a la muestra y adicionarla al matraz.
- 9.- Agregar 2 gotas del indicador de ferroina y titular con la solución FAS agitando constantemente, hasta vire del indicador de azul-verdoso a café-rojizo.

c.- Cálculos.

- 1.- La normalidad de la solución FAS se calcula una vez titulado el blanco frío, de la manera siguiente:

$$N = \frac{(\text{ml de solución de dicromato}) (N \text{ dicromato})}{\text{ml de solución FAS gastados para titular.}}$$

- 2.- La DQO expresada en mg O₂ /L se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$DQO = \frac{(\text{ml FAS}_{bc} - \text{ml FAS}_{muestra}) (N \text{ FAS}) (8) (1000)}{\text{ml muestra.}} \times \text{dilución}$$

donde:

ml FAS_{muestra} = volumen de la solución FAS empleado para titular la muestra.

ml FAS_{bc} = volumen de la solución FAS empleado para titular el blanco caliente.

N_{FAS} = Normalidad de la solución FAS obtenida al titular el blanco frío.

ANEXO C

MARCHAS DE LABORATORIO PARA ANALISIS PROXIMAL DE ALIMENTOS

C.1 DETERMINACION DE MATERIA SECA (MS).

La estimación indirecta del contenido de agua de los alimentos por pérdidas del material volátil, determinándose así la materia seca, es un procedimiento muy antiguo utilizado como primer paso a la preparación de la muestra para análisis posteriores, y permite los cálculos de los componentes sólidos de los alimentos. Normalmente la composición química de los alimentos viene expresada en base a la materia seca.

Equipos y materiales.

- Estufa
- Balanza Analítica
- Desecadores con sílica
- Pinzas
- Crisoles Pyrex o porcelana

Procedimiento

- 1.- Colocar crisoles (2 con identificación) en la estufa a 100°C por 1 hora.
- 2.- Sacar los crisoles de la estufa, colocarlos en un

deseCADador y pesar.

3.- Pesar 100 - 200 gr. de muestra (siempre en duplicado) en el crisol.

4.- Colocar los crisoles más muestra en la estufa a 60°C hasta peso constante.

5.- Depositar los crisoles más muestra en el desecador y pesar.

$$\% \text{ M.S.} = \frac{(\text{Peso de la muestra seca} + \text{crisol}) - (\text{Peso del crisol})}{\text{Peso de muestra}}$$

C.2 DETERMINACION DE CENIZA.

Las cenizas representan el contenido mineral del alimento obtenido por incineración a 555°C. Este análisis en cualquier alimento es necesario para preparar las muestras en la determinación de los minerales.

Equipos y materiales.

- Horno
- Desecador
- Balanza Analítica
- Crisoles de Pyrex o porcelana
- Pinzas

Procedimiento.

- 1.- Después de acondicionar un crisol de Pyrex agregar 1 gr. de muestra.
- 2.- Colocar el crisol en el horno e incrementar la temperatura a 100°C por cada 20 min., hasta alcanzar los 550°C.
- 3.- Mantener esta temperatura por 2 horas.
- 4.- Cuando el crisol está parcialmente enfriado (150°C - 200°C) sacar el horno, dejar enfriar en un desecador y pesar.

$$\% \text{ M.S.} = \frac{(\text{Peso de crisol con ceniza} - \text{Peso crisol})}{\text{Peso de muestra}}$$

C.3 DETERMINACION DE MINERALES.

En el análisis de los minerales (Ca, Fe, etc.) se utiliza la muestra de la determinación de ceniza.

Equipo, Materiales y Reactivos.

- Plancha caliente
- Espectrofotómetro de absorción atómica
- Balones volumétricos de 100 ml
- Papel filtro

- Embudos
- Campana de extracción de gases.
- HCl al 50%
- HCl al 50%

Procedimiento.

- 1.- Colocar el crisol con la muestra incinerada en una plancha caliente.
- 2.- Agregar algunas gotas de agua destilada, después agregar HCl al 20% hasta llegar a $1/4$ del volumen del crisol.
- 3.- Evaporar hasta la mitad del volumen.
- 4.- Agregar HCl al 10% hasta los $2/3$ del volumen del crisol.
- 5.- Evaporar la mitad del volumen, luego lavar las paredes con HCl 10% y evaporar más.
- 6.- Enjuagar con agua destilada y evaporar hasta que haya menos de 5 ml.
- 7.- Filtrar el contenido del crisol en un frasco

volumétrico de 100 ml utilizando el papel filtro enjuagando con HCl al 10% previamente.

8.- Aforar a 100 ml con agua destilada.

9.- Luego medir las concentraciones de los minerales con un aparato de absorción atómica, excepto el fósforo.

C.4 DETERMINACION DEL FOSFORO.

Equipo, Materiales y Reactivos.

- Espectrofotómetro de luz visible
- Pipetas volumétricas
- Balones
- Molibdato de Amonio
- Molibdato de Amonio diluido
- Cloruro estañoso

Procedimiento.

- 1.- Colocar 2 ml. de la solución aforada en la determinación de minerales (paso 8) en un balón.
- 2.- Añadir 10 ml. de la solución diluida de Molibdato de Amonio y 8 ml. de la solución diluida de Cloruro estañoso.

- 3.- Colocar el balón a baño María por 30 min. y a 70°C.
- 4.- Dejar enfriar.
- 5.- Leer a 660 nm. en un espectrofotómetro.

C.5 DETERMINACION DE FIBRA.

La fibra cruda es un término que representa la porción de alimento seco y desengrasado que resiste un tratamiento, primero ácido y luego alcalino. Los principales componentes de la fibra son celulosa, hemicelulosa y lignina, las cuales se consideran de muy dudosa digestibilidad por el organismo.

Equipo, Materiales y Reactivos.

- Plancha caliente.
- Balanza analítica.
- 2 Beaker de 250 ml.
- 2 filtros asbesto.
- 2 embudos.
- Crisol de pyrex.
- Estufa.
- Desecador.
- NaOH 0.31 N.
- H₂SO₂ 0.26 N.
- Acetona.

Procedimiento.

- 1.- Colocar en una plancha caliente 200 ml. de H_2SO_4 0.26 N. en un beaker, tapado con vidrio reloj.
- 2.- Añadir 3 g. de muestra al inicio de la ebullición del H_2SO_4 y dejar por 30 min. la digestión ácida.
- 3.- Después de 30 min. de ebullición, filtrar con 2 g. de asbesto como filtro.
- 4.- Lavar con 1/2 a 1 lt. de agua destilada caliente, tanto el beaker como el embudo.
- 5.- Colocar en un beaker 200 ml. de Na OH 0.31 N y poner en la plancha caliente para que ebullla.
- 6.- Vierta la muestra filtrada junto con el asbesto en el NaOH al inicio de la ebullición, dejar por 30 min. en ebullición y lavar el embudo con NaOH.
- 7.- Lavar con 100 ml. de acetona.
- 8.- Colocar la muestra con el asbesto en un crisol, poner en estufa a $130^{\circ}C$ por 2 horas.

9.- Colocar el crisol en un desecador y pesar.

10.- Depositar el crisol en un horno a 550°C pr 3 horas.

11.- Colocar en el desecador el crisol y luego pesar.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{(\text{Peso de muestra seca} - \text{Peso de muestra calcinada})}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

C.6 DETERMINACION DE PROTEINAS, METODO KJELDHAL.

Las proteínas se calculan a partir del contenido de nitrógeno obtenido por el método Kjeldhal y los factores de conversión para proteínas, correspondiente a diversos alimentos. En caso que el alimento sea de origen animal es 6.25 y de origen vegetal 5.6.

Equipo, Materiales y Reactivos.

- Balones de Kjeldhal
- 2 Buretas de 50 ml
- Erlenmeyer de 50 ml
- Porta y prensa buretas
- 2 pipetas de 10 ml
- Aparato kjeldhal
- Balanza analítica
- Acido sulfúrico concentrado
- Acido sulfúrico 0.1 N

- Hidróxido de sodio, 0.1 N
- Hidróxido de sodio 30 % p/v
- Sulfato de cobre
- Agua destilada
- Shiro Toshiro

Procedimiento.

- 1.- Colocar 0.1 g. de muestra, 0.56 g. de sulfato de cobre en un balón de kjeldhal y mezclar.
- 2.- Agregar 3 ml. de H_2SO_4 concentrado.
- 3.- Colocar el balón en el kjeldhal y calentar hasta que la solución tome un color transparente.
- 4.- Enfriar a temperatura ambiente.
- 5.- Depositar 10 ml. de H_2SO_4 0.1 N. en un erlenmeyer y colocar en el plato kjeldhal.
- 6.- Agregar al balón 10 ml de agua destilada y 10 ml. de NaOH 30%.
- 7.- Destilar por 30 min.

8.- Colocar en el erlenmeyer 2 gotas de shiro.

9.- Titular con NaOH 0.1 N.

$$\% \text{ Pr} = \frac{(\text{N de H}_2\text{SO}_4 \times \text{V (ml)} - (\text{n de NaOH} \times \text{V (ml)})) \times 6.25 \times 14}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

C.7 DETERMINACION DE GRASA. METODO SOXHLET

Lo que ordinariamente llamamos grasas incluyen ácidos grasos, esteroides y otras sustancias semejantes. Reciben el nombre de además de extracto etéreo y lípidos.

Este término comprende todas las sustancias extractables del alimento seco con una mezcla de etéreos según el método de Soxhlet.

Equipo, Materiales y Reactivos.

- 1 balón fondo plano, de 250 ml.
- Extractor
- Balanza analítica
- 1 sistema de enfriamiento
- Campaña de extracción
- Estufa
- Desecador
- Plancha caliente
- Eter de petróleo

Procedimiento.

- 1.- Pesar 5 a 10 gr. de muestra
- 2.- Colocar la muestra en un dedal de celulosa y tapar con algodón.
- 3.- Colocar el dedal en el extractor.
- 4.- En el balón previamente tarado, depositar éter de petróleo, colocar en el sistema de enfriamiento y aplicar temperatura.
- 5.- Después de 7 a 8 horas de extracción se puede dar por terminada la operación.
- 6.- Terminada la extracción, se evapora el éter bajo una campana. (aproximadamente una noche).
- 7.- Colocar el balón en una estufa a 105°C por 2 - 3 horas.
- 8.- Enfriar en un desecador y pesar.

$$\% \text{ Grasa} = \frac{(\text{Peso del balón con grasa secado} - \text{peso balón})}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

C.8 DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS

Este término comprende además de almidones y azúcares, ácidos orgánicos, pentosanos, etc.

El método de cálculo para determinar los carbohidratos en base seca se aplica a las sustancias representadas por la diferencia entre 100 y la suma de los porcentajes de grasa, fibra, cenizas y proteínas.