

Los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de La Libertad y la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major*

The main agroindustrial lignocellulosic residues of La Libertad and the Biomass production of *Candida utilis* var. *major*

Estefany Lizbeth Jara Huacacolqui

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad. PERÚ
estefanyjarah.2010@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0003-1216-1736>

Frans Allinson Leiva Cabrera

Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-PERÚ
fleiva@unitru.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0003-4666-4147>

Enrique Aurelio Martin Alva

Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, La Libertad. PERÚ
emartina@upao.edu.pe // <https://orcid.org/0000-0001-5341-8206>

Katherine Marita Elizabeth Medina Vásquez

Universidad Cesar Vallejo. Trujillo La Libertad-PERÚ
marita_mv2@hotmail.com // <https://orcid.org/0000-0003-2550-9084>

Cecilia Betzabet Bardales Vásquez

Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, La Libertad. PERÚ
cbardalesv@upao.edu.pe// <https://orcid.org/0000-0002-7811-3676>

Carlos Alberto León Torres

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad. PERÚ
cleon@unitru.edu.pe// <https://orcid.org/0000-0002-9808-186X>

Resumen

La producción de biomasa microbiana en el mundo ha experimentado muchos cambios durante las últimas dos décadas y se han desarrollado varios procesos para la producción de biomasa a cargo de microorganismos útiles como fuentes de proteína para alimentación. En la presente investigación se usaron residuos lignocelulósicos agroindustriales tales como “Brácteas” de *Cynara scolymus* var. *lorca*, “peladilla” de *Asparagus officinalis* y “coronta” de *Zea maiz* procedentes de la Provincia de Viru, Trujillo y Ascope respectivamente; tuvo como objetivo Evaluar la influencia de la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum* en la producción de biomasa de *Candida utilis* var *major*. Para ello se construyeron 10 biorreactores de vidrio tipo tanque agitado y aireado, que fueron alimentados con 100gramos de cada residuo lignocelulósico agroindustrial con 600 ml de agua destilada estéril, seguidamente se adiciono 70 ml de suspensión microbiana a 3×10^6 células por mililitro de *Trichoderma reesei*, *Chaetomium cellulolyticum* y *Trichoderma reesei* más *Chaetomium cellulolyticum* por 5 días. Encontrándose que la mayor cantidad de biomasa de Proteína Unicelular fue de 9,15 g/L con un rendimiento de 55% y una Productividad de 0.30 g/L-h, a partir de 26.9 g/L de Azúcares Reductores Totales extraídos de la Coronta de *Zea maiz* en la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum*.

Palabras claves: Asociación, Producción, Biomasa, Residuos, Proteína unicelular.

Abstract

The production of microbial biomass in the world has undergone many changes during the last two decades and several processes have been developed for the production of biomass loaded with useful microorganisms as sources of protein for food. In the present investigation, agroindustrial lignocellulosic residues such as “brácteas” of *Cynara scolymus* var. *lorca*, “peladilla” of *Asparagus officinalis* and “coronta” of *Zea maiz* from the Province of Virú, Trujillo and Ascope respectively; aimed to evaluate the influence of the mixed association of *Trichoderma reesei* and *Chaetomium cellulolyticum* on the biomass production of *Candida utilis* var *major*. For this, 10 aerated and stirred tank type glass bioreactors were built, which were fed with 100 grams of each agroindustrial lignocellulosic waste with 600 ml of sterile distilled water, then 70 ml of microbial suspension was added at 3×10^6 cells per milliliter of *Trichoderma reesei*, *Chaetomium cellulolyticum* and *Trichoderma reesei* plus *Chaetomium cellulolyticum* for 5 days. Finding that the largest amount of Unicellular Protein biomass was 9.15 g/L with a yield of 55% and a Productivity of 0.30 g/L-h, from 26.9 g/L of Total Reducing Sugars extracted from the Crown of *Zea maiz* in the mixed association of *Trichoderma reesei* and *Chaetomium cellulolyticum*.

Keywords: Association, Production, Biomass, Waste, single cell protein.

Citación: Jara, E.; F. Leiva; E. Martin; K. Medin; C. Bardales & C. León. 2022. los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de La Libertad y la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major*. Arnaldoa 29(1): 163-176 doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.291.29110>

Introducción

En la actualidad el mundo afronta una serie de problemas ecológicos, siendo la contaminación uno de los que causan mayor impacto a los diferentes organismos; definiéndose a ésta como el factor que causa la modificación de las características físicas,

químicas y biológicas del ambiente (León, 2009).

Las pocas alternativas, desde el punto de vista económico, social y nutricional, que en la actualidad se presentan para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales, aunado a la falta de

conciencia en la protección del medio ambiente provocan que estos sean mal manejados y se conviertan en fuentes de contaminación de los recursos naturales; suelo, agua y aire. (Cabos, 2014).

Los materiales lignocelulósicos juegan un papel muy importante debido a la enorme disponibilidad de este subproducto y a las diferentes fuentes agroindustriales que lo generan. Además, debido al inminente agotamiento de los recursos petrolíferos en el mundo, es necesario encontrar tecnologías novedosas utilizando recursos renovables, por ejemplo, biomasa lignocelulósica (Bardales, 2020).

De los principales componentes de los materiales lignocelulósicos, La celulosa es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza y su biosíntesis, química y su estructura aún permanecen activos como campo de investigación (Álvarez, 2012). Tal es el caso que en las últimas décadas ha habido un creciente interés por desarrollar proyectos sostenibles basados en la química verde, lo que ha conducido a la generación de materiales celulósicos novedosos y materiales compuestos que incluyen materiales celulósicos y whiskeres de celulosa, así como también, la generación de energía por medio de la obtención del bioetanol, bioaceites o el uso integral del material lignocelulósico (Bardales, 2009). Además, después de la celulosa, la lignina es la segunda fuente renovable más abundante que existe en la naturaleza y es por esta razón que se han desarrollado usos alternativos para aprovechar este subproducto agroindustrial, tal como la generación de fibras de carbón para la industria de los materiales compuestos (Cuervo *et al.*, 2009).

Pero para que constituya una fuente abundante y rentable de materias primas

debe considerarse su aprovechamiento completo y no únicamente la de la parte azucarada, además de los compuestos y productos intermedios para maximizar el valor de la materia prima (Florián, 2014).

Debido a esto, diversas investigaciones han estado dirigidas al establecimiento de asociaciones mixtas de hongos filamentosos y levaduras para enriquecer sustratos lignocelulósicos con proteína microbiana para emplearlos en alimentación de rumiantes. Como ya es conocido algunas especies de hongos del género *Trichoderma* son capaces de hidrolizar la lignina mientras que el género *Chaetomium* hidroliza la celulosa, liberando de esta manera a las moléculas de glucosa que pueden ser fácilmente fermentables por levaduras como *Candida utilis*, incrementando el valor proteico de los residuos (Canedo *et al.*, 2016).

El proceso biotecnológico planteado en este proyecto permitirá convertir los residuos lignocelulósicos agroindustriales en fuente de alimento de alto contenido proteico para el ganado así como también disminuir los costos de alimentación del ganado en especial de rumiantes al utilizar residuos lignocelulósicos propios de nuestra región generando de esta manera las condiciones que permitan la producción, consumo y la comercialización de los mismos por las comunidades rurales lo cual redundará en un beneficio económico al adoptar esta actividad como fuente de ingreso. Por lo que se estudió la Influencia de la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum* en la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major* a partir de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de la región La Libertad.

Materiales y Métodos

Material biológico

“Brácteas” de *Cynara scolymus* var. *lorca* procedente de la Empresa Agroindustrial Dámper SAC, ubicada en la Provincia de Virú Departamento de La Libertad- Perú.

“Peladilla” de *Asparagus officinalis* procedente de la Empresa Agroindustrial Yosimar SAC, ubicada en la Provincia de Trujillo Departamento de La Libertad-Perú.

“Coronta” de *Zea maiz* procedente de la Empresa Agroindustrial Casa Grande, ubicada en la Provincia de Ascope Departamento de La Libertad- Perú.

Trichoderma reesei de la Colección Española de Cultivos Tipo- C.E.C.T 2414.

Chaetomium cellulolyticum de la Colección Española de Cultivos Tipo- C.E.C.T 2104.

Candida utilis var. *major* de la Colección Española de Cultivos Tipo- C.E.C.T 1430.

Todas las cepas fueron donadas por el Dr. Carlos Alberto León Torres profesor del departamento de química biológica y fisiología animal de la facultad de ciencias biológicas

Acondicionamiento de los residuos lignocelulósicos

Se colectó 2 kg de cada uno de los principales residuos lignocelulósicos de la Región La Libertad; identificados según Florián (2015). Fueron lavadas y posteriormente secadas en estufa a temperatura constante 70°C/ 24 horas, posteriormente fueron fraccionadas a 1 mm de espesor (Bardales *et al.*, 2009).

pretratamiento de los sustratos

500g de muestra se mezclaron con 2

ml/g de NaOH al 2% (p/v) y se autoclavó a 121°C por 30 minutos a 1 atmósfera de presión. Seguidamente se lavó con agua destilada y seco en la estufa (Bardales *et al.*, 2009).

Acondicionamiento de los biorreactores

Se construyeron 10 biorreactores de vidrio tipo tanque aireado (León, 2009) de 1L de capacidad de 20 cm de altura por 10 cm de diámetro, con tapas de jebe microporoso y acondicionado con humidificador de aire, en el cual se empleó un frasco de vidrio de 250 ml de capacidad, la cual llevo 50 ml de solución acuosa de NaCl al 10% (p/v). Se realizaron acoples con tubos de vidrio y mangueras de PVC de 0.64 cm de diámetro (Casanova, 2019).

Suministro de aire estéril

El aire estéril fue suministrado por bombas de aireación de pecera “air pump” 300, el aire paso por dos frascos de solución de NaCl al 20%, esterilizando así el aire que se suministró al sistema de fermentación a razón de 60 ml/ min a cada biorreactor (Gil, 2021).

Reactivación de las cepas

Se usaron cepas liofilizadas de la colección española de cultivos tipo (CECT) de *Trichoderma reesei* 2414, *Candida utilis* 1430 y *Chaetomium cellulolyticum* 2104; las mismas que fueron reactivadas en agar sabouraud y agar sales minerales con celulosa respectivamente. (Bardales, 2020).

Preparación del inoculo para el bioproceso

De los cultivos stock se sembraron 15 botellas planas de 250 ml de capacidad, conteniendo 50 ml de caldo sabouraud, 5

ml para cada microorganismo de estudio a 28 °C por 10 días. Posteriormente se hicieron suspensiones de esporas, mohos y levaduras en 20 matraces de 200 ml cada uno con caldo sabouraud, con la finalidad de determinar el número de esporas/ml 3×10^6 de la suspensión, para lo cual se utilizó la cámara de Neubauer (Casanova, 2019).

Obtención y determinación de azúcares reductores totales-ART.

Una vez ensamblados los biorreactores fueron alimentados con 100 gramos de cada residuo lignocelulósico. Asimismo, fueron mezclados con 630 ml de agua destilada estéril suplementada con sulfato de amonio a 1 gramo/litro del biorreactor y pH 4.5 (Gíl, 2021); seguidamente se adiciono 70 ml de suspensión microbiana a 3×10^6 de *Trichoderma reesei*, *Chaetomium cellulolyticum* y *Trichoderma reesei* más *Chaetomium cellulolyticum* por 5 días, previamente se tomó una muestra con lo cual se determinó los Azúcares Reductores Totales a 0,20,40,60,80,96 horas del bioproceso y fue determinado mediante el método de Folin Wu, 1920.

Producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major*

Obtenido el caldo fermentativo rico en Azúcares Reductores Totales se procedió a inocular 1×10^6 cell/ml de *Candida utilis* var. *major* para evaluar cada 4 horas por 24 horas el desarrollo de la biomasa (Guevara *et al.*, 2019).

Cuantificación de biomasa de *Candida utilis* var. *major*

Se realizó mediante el método propuesto por (Bardales *et al.*, 2009; León, 2009); donde se usó el método gravimétrico y recuento en

cámara de Neubauer.

Análisis estadístico

La determinación de diferencias entre bloques y tratamientos se realizará con la prueba t de student. La variación entre tratamientos se hará mediante test de ANOVA7 y Tukey. Asimismo, para determinar la relación entre bloques y tratamientos se realizará un test de relación de Pearson (Beltrán, 2014).

Resultados

Tabla 1. Resultados promedio de la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major* 1430 obtenida de la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium celluloliticum* a partir de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de La Libertad. Durante 24 horas de bioproceso.

ART DEL RESIDUO	DISEÑO DE EXPERIMENTACIÓN	BIOMASA DE <i>Candida utilis</i> (celulas/ml)							
		TIEMPO (HORAS)							Biomasa g/L
		0	4	8	12	16	20	24	
PELADILLA DE ESPÁRRAGO	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁵	3E ²	3E ⁸	5E ³	6E ⁷	6E ⁹	4.27
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁶	3E ³	3E ⁶	4E ⁴	4E ⁷	4E ⁹	3.41
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁸	3E ⁵	4E ²	5E ⁹	7E ⁵	7E ⁹	5.62
CORONATA DE MAIZ	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁸	3E ⁷	4E ⁵	6E ⁹	8E ²	8E ⁹	7.14
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁷	3E ⁶	4E ³	6E ⁸	7E ⁷	8E ²	6.65
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁸	3E ⁹	5E ²	6E ⁶	7E ⁹	9E ⁹	9.15
BRACTEAS DE ALCACHOFA	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁴	2E ⁸	3E ¹	3E ³	3E ⁵	3E ⁶	1.59
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁵	2E ⁷	2E ⁸	2E ⁸	2E ⁸	2E ⁹	0.96
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	1E ⁶	2E ⁴	3E ⁷	3E ²	3E ⁴	3E ⁷	3E ⁹	2.01
TESTIGO CALDO SABOURAUD	<i>Candida utilis</i> var. <i>Major</i> CECT 1430	1E ⁶	2E ⁷	3E ⁶	4E ⁷	6E ⁵	7E ³	7E ⁸	7.05

Tabla 2. Análisis de Varianza bifactorial para estimar su influencia en la producción de biomasa (g/L) de *Candida utilis* var. *major* 1430

Fuentes de Variación	GL	S. C.	C. M.	Valor F	Valor p
Modelo	3	45.987	15.3289	2.47	0.087
Lineal	2	45.338	22.6690	3.65	0.042
Residuos	1	38.194	38.1938	6.16	0.021
Microorganismos	1	7.144	7.1442	1.15	0.294
Interacciones de 2 términos	1	0.649	0.6487	0.10	0.749
Residuos* Microorganismos	1	0.649	0.6487	0.10	0.749
Error	23	142.715	6.2050		
Falta de ajuste	5	142.713	28.5425	285425.45	0.000
Error puro	18	0.002	0.0001		
Total	26	188.701			

Diferencias significativas con $p = 0.05$

Tabla 3. Análisis de Varianza unifactorial para estimar diferencias de biomasa de *Candida utilis* por tipos de Residuos Lignocelulosicos Agroindustriales y microorganismos.

Factores	Fuente	GL	S.C.	C.M.	Valor de F	Valor p
Residuos	Factor	3	211.80	70.5997	114.94	0.000
	Error	32	19.65	0.6142		
	Total	35	231.45			
Microorganismos	Factor	3	59.88	19.960	3.72	0.021
	Error	32	171.57	5.362		
	Total	35	231.45			

Diferencias significativas con $p = 0.05$

Tabla 4. Resultados promedio del Biomasa (X), rendimiento (Y) y productividad (P) de la influencia de la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum* en la producción de biomasa de *Candida utilis* a partir de los principales Residuos Lignocelulósicos Agroindustriales de la región la libertad.

RESIDUO	DISEÑO DE EXPERIMENTACIÓN	AZUCARES REDUCTORES (g/L)			Biomasa Neta producida "X" (g/L)	Rendimiento En base a sustrato Consumido Y (%)	Productividad En el tiempo del bioproceso " P" (g/L-h)
		Inicial	Final	Consumido			
PELADILLA DE ESPÁRRAGO	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	9.5	0.5	9.00	4.27	47	0.18
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	7.1	0.0	7.10	3.41	48	0.14
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	11.2	0.7	10.50	5.62	53	0.23
CORONTA DE MAIZ	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	18.3	5.3	13.00	7.14	55	0.30
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	12.8	0.5	12.30	6.65	54	0.28
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	26.9	7.9	19.00	9.15	48	0.38
BRACTEAS DE ALCACHOFA	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	4.1	0.0	4.10	1.59	38	0.06
	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	2.6	0.0	2.60	0.96	37	0.04
	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Chaetomium cellulolyticum</i> + <i>Candida utilis</i>	5.1	0.0	5.10	2.01	39	0.08
TESTIGO CALDO SABOURAUD	<i>Candida utilis</i> var. <i>Major</i> CECT 1430	20	7.2	12.8	7.05	55	0.29

Tabla 5. Análisis de Varianza bifactorial para estimar la influencia de Residuos Lignocelulósicos Agroindustriales y microorganismos en el rendimiento y productividad de *Candida utilis*.

Biomasa	Fuentes de Variación	GL	S. C.	C. M.	Valor F	Valor p
Rendimiento	Modelo	3	599.39	199.796	8.22	0.001
	Lineal	2	578.06	289.028	11.89	0.000
	Residuos	1	578.00	578.000	23.77	0.000
	Microorganismos	1	0.06	0.056	0.00	0.962
	Interacciones de 2 términos	1	21.33	21.333	0.88	0.359
	Residuos* Microorganismos	1	21.33	21.333	0.88	0.359
	Error	23	559.28	24.316		
	Falta de ajuste	5	551.94	110.389	270.95	0.000
	Error puro	18	7.33	0.407		
	Total	26	1158.67			
Azúcar	Fuentes de Variación	GL	S. C.	C. M.	Valor F	Valor p
Productividad	Modelo	3	0.080375	0.026792	2.41	0.093
	Lineal	2	0.079700	0.039850	3.59	0.044
	Residuos	1	0.068450	0.068450	6.16	0.021
	Microorganismos	1	0.011250	0.011250	1.01	0.325
	Interacciones de 2 términos	1	0.000675	0.000675	0.06	0.807
	Residuos* Microorganismos	1	0.000675	0.000675	0.06	0.807
	Error	23	0.255492	0.011108		
	Falta de ajuste	5	0.255492	0.051098	*	*
	Error puro	18	0.000000	0.000000		
	Total	26	0.335867			

Diferencias significativas con p = 0.05

Tabla 6. Análisis de Varianza unifactorial para estimar diferencias de rendimiento y productividad *Candida utilis* dentro de Residuos Lignocelulósicos Agroindustriales y Microorganismos.

Biomasa	Factores		Fuente	GL	S.C.	C.M.	Valor de F	Valor p
Rendimiento	Residuos	Factor	3	1476.0	492.000	88.45	0.000	
		Error	32	178.0	5.563			
		Total	35	1654.0				
	Microorganismos	Factor	3	457.9	152.63	4.22	0.013	
		Error	32	1157.1	36.16			
		Total	35	1615.0				
Azúcar	Factores		Fuente	GL	S.C.	C.M.	Valor de F	Valor p
Productividad	Residuos	Factor	3	0.37500	0.125000	127.39	0.000	
		Error	32	0.03140	0.000981			
		Total	35	0.40640				
	Microorganismos	Factor	3	0.097800	0.032600	3.38	0.030	
		Error	32	0.30860	0.009644			
		Total	35	0.40640				

Diferencias significativas con $p = 0.05$

Tabla 7. Prueba de Tukey para tipificar diferencias dentro de cada factor en el promedio de Azúcares Reductores Totales inicial, final y consumida.

Biomasa		Factores	N	Media	Agrupación
Rendimiento	Residuos	Coronta de maíz	9	52.330	A
		Peladilla de espárrago	9	49.667	A
		Testigo (Caldo Sabouraud)	9	38.333	B
		Brácteas de alcachofa	9	38.333	B
	Microorganismos	Testigo (<i>Candida utilis</i>)	9	55.00	A
		<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	9	47.00	B
		<i>Trichoderma</i> + <i>Chaetomium</i> + <i>Candida</i>	9	46.89	B
		<i>Chaetomium celluloliticum</i> + <i>Candida utilis</i>	9	46.44	B
Azúcar		Factores	N	Media	Agrupación
Productividad	Residuos	Coronta de maíz	9	0.3200	A
		Testigo (Caldo Sabouraud)	9	0.2900	A
		Peladilla de espárrago	9	0.1833	B
		Brácteas de alcachofa	9	0.0600	C
	Microorganismos	Testigo (<i>Candida utilis</i>)	9	0.2900	A
		<i>Trichoderma</i> + <i>Chaetomium</i> + <i>Candida</i>	9	0.2300	A B
		<i>Trichoderma reesei</i> + <i>Candida utilis</i>	9	0.1800	A B
		<i>Chaetomium celluloliticum</i> + <i>Candida utilis</i>	9	0.1533	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Discusión

La producción de biomasa microbiana en el mundo ha experimentado muchos cambios durante las últimas dos décadas, se han desarrollado varios procesos para la producción de biomasa a cargo de microorganismos útiles como fuentes de proteína para alimentación, debido al valor nutritivo de la materia celular, a la rapidez del proceso y a la habilidad de algunos microorganismos de poder metabolizar azúcares de los desechos de otras industrias (Galanakis, 2012).

La Tabla 2, muestra que los factores residuos y microorganismos, influyen significativamente en la producción de biomasa de *Candida* útilis, pero no existe influencia aditiva de los factores. Sin embargo, en la Tabla 3, se presentan los resultados del Análisis de Varianza unifactorial, los cuales confirman los resultados hallados en la Tabla 2, con la diferencia que en la Tabla 3 se incluye al testigo, no considerado en el Análisis de Varianza bifactorial.

La biomasa neta producida, por *Candida utilis* var. *major* aumenta progresivamente tal como se incrementa la concentración de azúcares reductores totales de melaza de caña de azúcar. Similar comportamiento ocurre con la productividad, debido a que existe una buena homogenización y disponibilidad del sustrato en el medio (Estévez, 1998). Utilizando un nivel industrial el cultivo de *Candida utilis* var. *major*. Empleando melaza diluida de caña de azúcar al 2% (20 g/L) se obtuvieron rendimientos del 45%; aun un tanto lejos del rendimiento teórico 56.7% Estévez (1998), León, 2005 encontró que el rendimiento de *Candida utilis* var. *major*. Obtenido (55%) es superior a (45%).

Mientras que la Tabla 5 del Análisis de Varianza bifactorial, muestra que no existe interacción entre los factores, y que, el factor residuos influye (diferencias significativas) en el rendimiento y productividad de *Candida utilis*; sin embargo, el Análisis de Varianza unifactorial (Tabla 6) en el que se incorpora el testigo, muestra que los factores residuos y microorganismos, influyen en el rendimiento y productividad de *Candida utilis*. La tipificación de las diferencias significativas ($p = 0.05$) se realizó con la prueba de Tukey (Tabla 7); donde se observa que el rendimiento más alto dentro del factor residuos (4.57), se presenta en la coronta de maíz seguido de espárrago (0.40); aunque, estadísticamente, son iguales entre sí y diferentes al testigo y alcachofa (0.00), que son homogéneos. En la productividad, la coronta de maíz muestra el mayor valor seguido del testigo; pero, estadísticamente son iguales; el tercer lugar lo ocupa el espárrago y difiere del valor de alcachofa.

En una investigación de producción a nivel industrial de cultivo de *Candida utilis* var. *major*., empleando melaza diluida al 2%, se han obtenido rendimientos de 45% de levadura y 92% de masa seca, teniendo en cuenta un rendimiento teórico de 56,7%, comparado con un 55% en rendimiento real que se obtuvo al trabajar con una concentración de 15 g/L de ART de melaza; así también se obtuvo en rendimiento de 56.2% a una concentración de 20 g/L. de ART de cascara de café (León, 2005; Rodríguez, 2012).

La factibilidad económica de la producción de proteína unicelular depende básicamente del uso eficiente de un sustrato barato por el microorganismo, el cual debe proceder de actividades industriales propias de la zona en donde se desea producir la proteína unicelular (Palazón,

2010), esto logra que el sustrato empleado sea de bajo costo, disponible durante todo el año y sobre todo el proceso contribuye a limpiar el medio ambiente de los desechos industriales; lo cual hace de esta actividad una alternativa económica, social y ecológica (Rodríguez et al., 2012).

Conclusiones

La asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum*, influyó positivamente en la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major*. a partir de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales (“brácteas” de *Cynara scolymus* var. *lorca*, “peladilla” de *Asparagus officinalis* y “coronta” de *Zea maiz*) de la región La Libertad.

La mayor cantidad de biomasa de Proteína Unicelular fue de 9,15 g/L con un rendimiento de 55% y una Productividad de 0.30 g/L-h, a partir de 26.9 g/L de Azúcares Reductores Totales extraídos de la Coronta de *Zea maiz* en la asociación mixta de *Trichoderma reesei* y *Chaetomium cellulolyticum*.

Agradecimientos

A todo el personal de la estación experimental de bioquímica aplicada, por todo su apoyo brindado para la realización de la presente investigación, desde el apoyo logístico hasta las facilidades técnico-científicas.

Contribución de los autores

E. J. Concepción de la idea, instalación del diseño, recolección de datos, F. L., E. M., K. M.: análisis estadísticos e interpretación de los resultados. C. B., C. L. revisión de los datos y aprobación de la versión final del artículo. Los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Literatura Citada

- Álvarez, A.; S. García; E. Domínguez; M. Granados; J. Aguirre; A. Carmona; R. Morales; A. Herrera; P. Licea & A. Mendoza. 2012. “Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos”, Revista Iberoamericana de Polímeros, 13(4), 140-150. Disponible en: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/SEP12/alvarez.pdf>.
- Bardales, C.; J. Mostacero.; C. León; J. Arellano; M. Salazar; C. Nomberto & O. Pretell. 2009. Extracción de azúcares reductores totales “ART” de “peladilla” de *Asparagus officinalis* “espárrago” por métodos físicos, químicos y físico químicos. Revista ARNALDOA. Vol 16(1). Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo. Perú.
- Casanova, M. 2019. Optimización de las concentraciones de melaza de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias. Mención Biotecnología agroindustrial y ambiental. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Bardales, C.; J. Cabos; C. León & E. Jara. 2020. Enriquecimiento proteico de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de la Región La Libertad con la asociación mixta de *Trichoderma reesei*, *Chaetomium cellulolyticum* y *Candida utilis* para alimentación animal. Arnaldoa, XXVII(1), 1007-1016. <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v27n1/2413-3299-arnal-27-01-99.pdf>.
- Beltrán O., R. 2014. Metodología de la Investigación Científica. Orientado a las ciencias bioagrarias y ambientales. Lima: Concytec
- Canedo, S.; F. De Paula; A. Da Silva & F. Vendruscolo. 2016. Protein enrichment of brewery spent grain from *Rhizopus oligosporus* by solid-state fermentation. Bioprocess and biosystems Engineering, 39(7):1105-1113. <https://doi.org/10.1007/s00449-016-1587-8>
- Cabos, J. 2014. “Evaluación de las concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio del Biol y Biosol obtenidos a partir de estiércol de ganado vacuno en un biodigestor de geomembrana de policloruro de vinilo”. Escuela de posgrado de la Universidad Nacional de Trujillo

- Cuervo, L.; J. Folch & R. Quiroz.** 2009. "Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol", *BioTecnología*, 13(3): 10-26. Disponible en: http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Lignocelulosa.pdf
- Florián, P.; C. León; F. Villanueva & C. Bardales.** 2015. Valor económico de los principales residuos lignocelulósicos de los principales cultivos agrícolas del valle Virú, La Libertad-Perú-2014. *Arnaldoa*, ISSN-1815-8242. Vol.22-1 <https://biblat.unam.mx/es/revista/arnaldoa/articulo/valor-economico-de-los->
- Folin & Wu.** 1920. *Journal Biological Chemistry*, 41(367). Referido en *Physiological chemistry*. Philip H; Hawk, B. Oser; W. Summerson (12va ed.). Toronto, Canadá: The Blackiston Company.
- Galanakis, C.** 2012. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, XXVI(2): 68-87.
- Guevara, G.; L. Yamashiro; Y. Córdova; E. Portilla; C. León & C. Vásquez.** 2019. Influencia de la concentración de Azúcares Reductores Totales "ART" de "brácteas" de *Cynara scolymus* L. var. *lorca* (Asteraceae) "alcachofa" en la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major* CECT 1430. *Arnaldoa*, XXVI(3), 1007-1016. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26310>
- Gil, L.** 2021. Influencia de la concentración del líquido de gobierno en la producción de biomasa de *Candida utilis* var. *major*. Tesis para obtener el grado de doctor en microbiología. Escuela de posgrado de la Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Gil, I. & C. León.** 2021. Diseño y construcción de un biorreactor batch tipo tanque agitado y aireado para la producción de proteína unicelular. *REBIOL-Vol.* 41-1. <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2021.41.01.02>
- Estévez, R.** 1998. Influencia de la concentración de azúcares sobre la producción de levadura torula. *Rev. ICIDCA* 7(3): 61-63. La Habana. Cuba.
- León, C.** 2005. Influencia de la concentración de melaza de *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias. Mención Biotecnología y Bioingeniería. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.
- Rodríguez, L.; C. León & C. Bardales.** 2013. Influencia de la concentración de azúcares reductores totales de "cáscara" de *Coffea arabica* L. en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis* var. *major*. *Arnaldoa* 20 (2): 445 - 456, 2013. ISSN: 1815-8242.