UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

AL-INVEST Verde
DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

INPI
INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
ARGENTINA

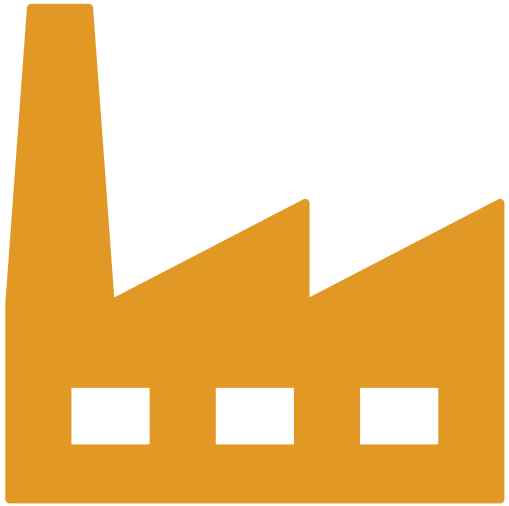
# NUEVA TECNOLOGÍA DE VALORIZACIÓN DEL LACTOSUERO DE QUESERÍA: BIORREFINERÍA PARA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE LEVADURAS PROBIÓTICAS. DEL LABORATORIO AL ESCALADO PRODUCTIVO Y LA TRANSFERENCIA.

Dr. Martin Rumbo

CIDCA
CONICET LA PLATA

CONICET
I I F P

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

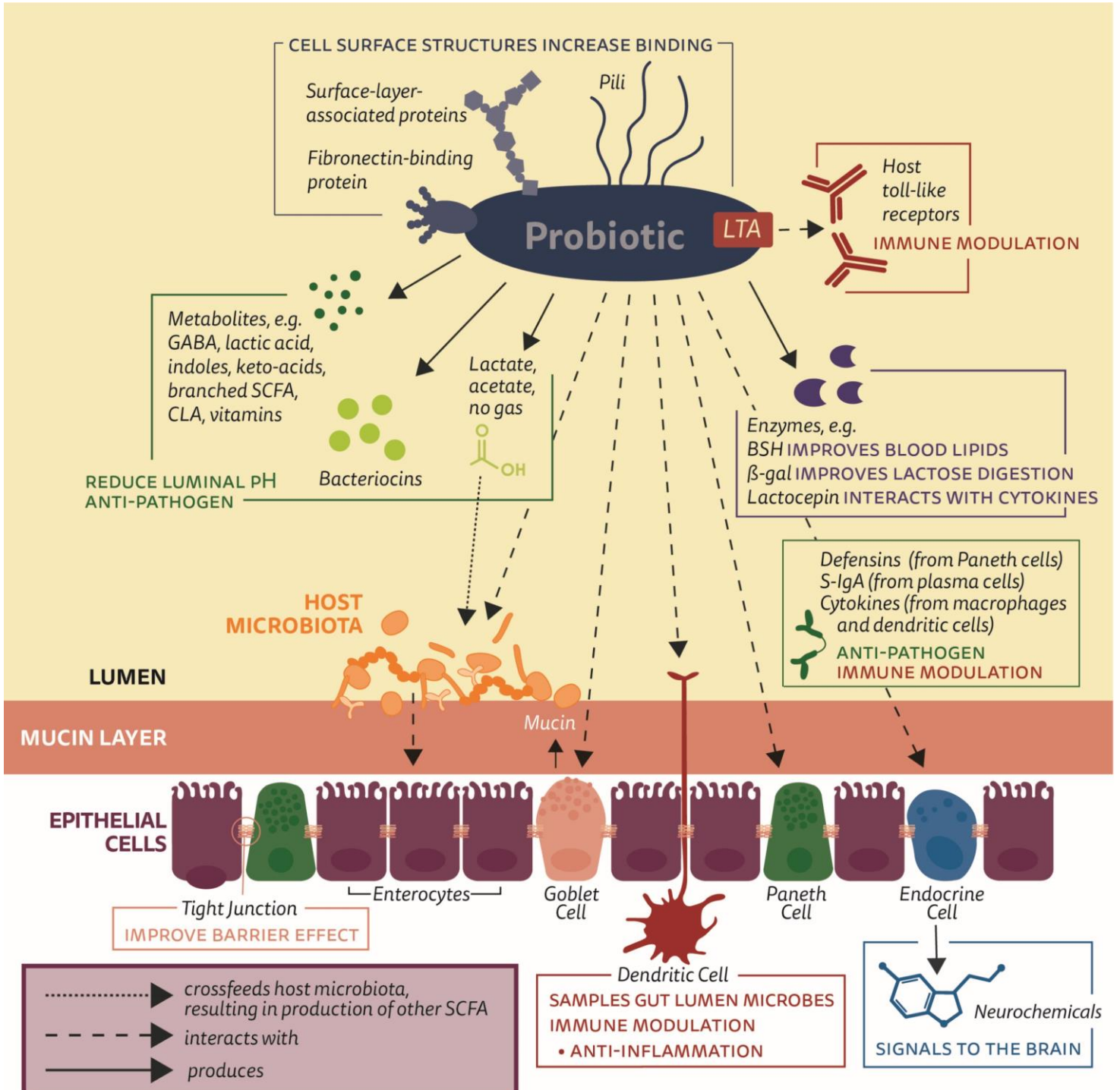


**Se puede usar un residuo industrial para generar biomasa que mantenga propiedades probióticas?**

## ¿QUÉ ES UN PROBIÓTICO?

Microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto beneficioso sobre la salud de quien los consume.

**SE PUEDE USAR UN RESIDUO INDUSTRIAL PARA GENERAR BIOMASA QUE MANTENGA PROPIEDADES PROBIÓTICAS?**



# SUERO DE QUESERÍA

LÍQUIDO FORMADO POR PARTE DE LOS COMPONENTES DE LA LECHE, QUE RESULTAN DE DIVERSOS PROCESOS DE ELABORACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS, POR EJEMPLO DE QUESOS, DE MANTECA, DE CASEÍNA O DE RICOTA, SEGÚN CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO.

| | |
|---|---|
| Humedad: | 3,5 % (p/p) |
| Materia grasa: | 2 % (m/m) |
| Proteínas: | 12 % (m/m) |
| Hidratos de carbono: | 75 % (m/m) |
| Sales minerales (cenizas): | 5,5 % (m/m) |
| pH (solución al 10%): | 5.1 |

**DBO /DBQ**

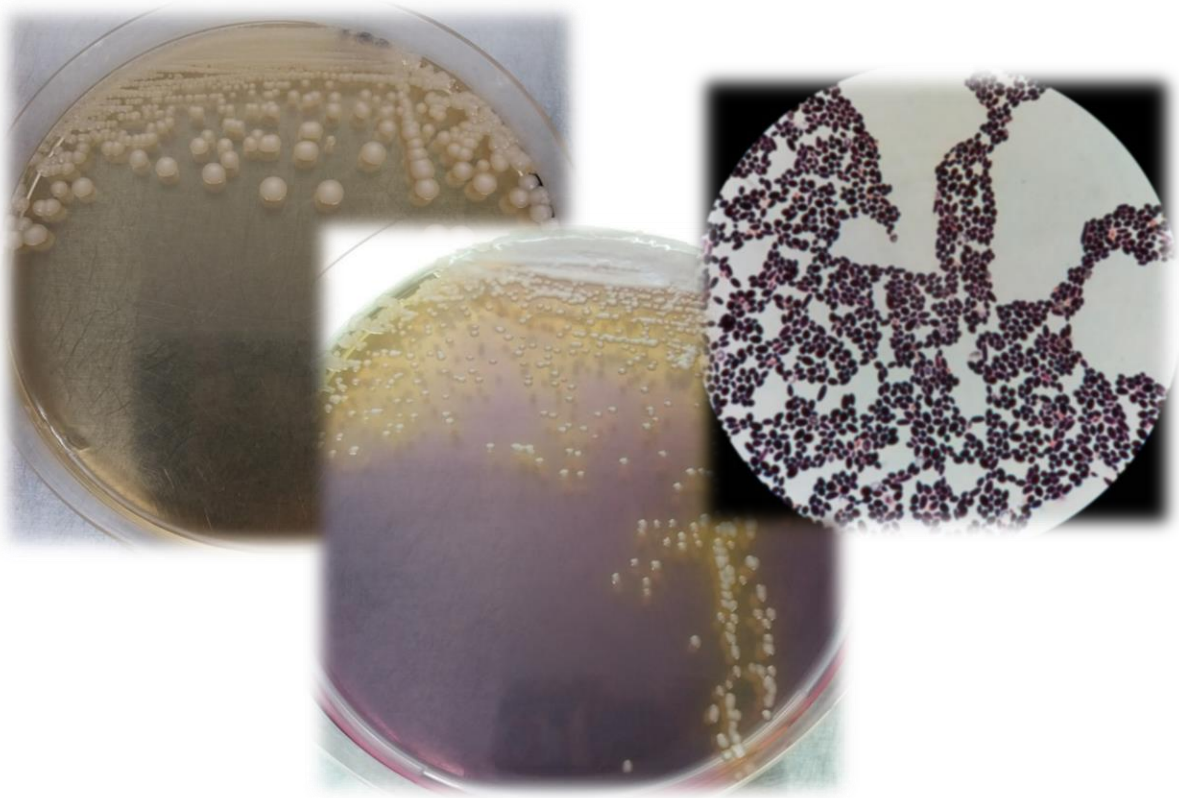
1KG DE QUESO→ 9 LITROS DE SUERO

| País | Producción anual de leche (millones de litros por año) | Producción de queso (% del total de leche) | Suero generado (millones de litros por año) | Estimado de suero a alimentación animal o vertido a efluente (% estimado) |
|---|---|---|---|---|
| Argentina | 11.338 | 41 | 4.015 | 55 |
| Brasil | 33.400 | 38 | 10.500 | 49 |
| Colombia | 6.772 | 35* | 2.033 | 70 |
| Uruguay | 2.100 | 35 | 625 | 20 |

Perdida de valor y generación de contaminación ambiental

Castells, M. L., Gonzalez, M., Mattos, C., Juliano, P., Silva, C. M., Sepulveda, J. U., ... & Lopez, T. (2017). Alternativas de valorización de sueros de quesería.

# SELECCION DE MICROORGANISMOS ADECUADOS PARA UNA BIORREFINERIA A PARTIR DE LACTOSUERO: PROPUESTA TECNOLOGICA



## *Kluyveromyces marxianus*

Levadura con características de interés para biorefineria:

- ✓ Fermentador de lactosa
- ✓ Alta velocidad de crecimiento
- ✓ Termotolerancia (45°C)

Características probióticas

- ✓ Tolerancia a la acidez y sales biliares: supervivencia al pasaje por tracto gastrointestinal
- ✓ Capacidad Immunomodulatoria y de protección frente al estress oxidativo

Solicitud de patente al Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI-Brasil), julio de 2019, con número BR 10 2019 015292 3 y título PROCESSO INTEGRADO DE BIORREFINO DO SORO DE LEITE E COMPOSIÇÃO PROBIÓTICA OBTIDA; en marzo de 2020 fue depositado un pedido similar en el Instituto Nacional de Propiedad Intelectual (INPI-Argentina) con número Acta N 20190103648

Springer Link

Bioenergy and biofuels | Published: 16 April 2021

# A biorefinery concept for the production of fuel ethanol, probiotic yeast, and whey protein from a by-product of the cheese industry

María Dolores Pendón, José V. Madeira Jr, David E. Romanin, Martín Rumbo, Andreas K. Gombert & Graciela L. Garrote

*Applied Microbiology and Biotechnology* **105**, 3859–3871 (2021) | Cite this article

**1005** Accesses | Metrics

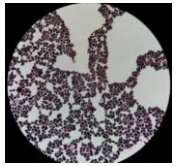
# PROYECTO: NUEVA BIORREFINERIA DESDE SUERO DE QUESERÍA A ETANOL/PROBIÓTICOS/CONCENTRADO PROTEICO

Residuo industrial problemático

SUERO

## PERMEADO DE SUERO

LEVADURAS



Producto con valor agregado

BIOETANOL

Producto con valor agregado

BIOMASA PROBIÓTICA

## PROTEÍNA

Producto con valor agregado

Fase de laboratorio concluida

Financiamiento obtenido para etapa piloto (PICTA- Set 2022) – desarrollo de esquema asociatividad.

Estudio de distintos modelos de negocios

# VALORIZACIÓN DEL LACTOSUERO PARA PRODUCCIÓN DE CONCENTRADO PROTEICO, BIOETANOL Y BIOMASA PROBIÓTICA. VALIDACIÓN DE PROPIEDADES PROBIÓTICAS DE *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* OBTENIDO EN ESCALA PILOTO

- sobrevive a condiciones análogas a las del tracto gastrointestinal *in vitro*
- mejora la respuesta antiinflamatoria de células epiteliales intestinales en cultivo
- sobrevive en el TGI de animales sin translocar a hígado y bazo (seguridad)

**Objetivo general:** verificar si las levaduras generadas a partir de la fermentación de lactosuero en escala piloto (100 L) mantienen las propiedades probióticas previamente demostradas a escala de laboratorio (50 mL)

Convocatoria PICT Aplicados 2021 - Categoría III - Vinculación

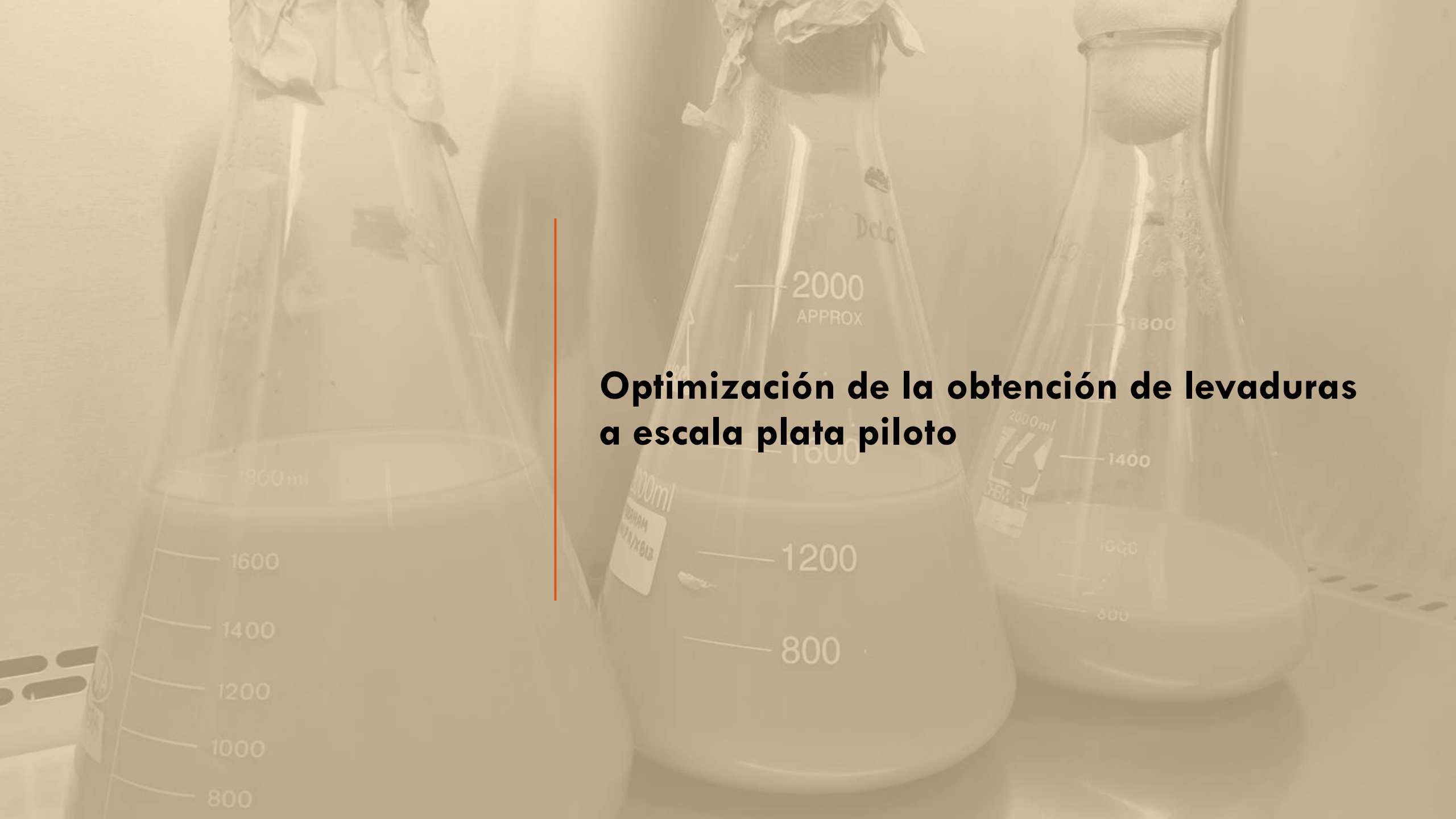
# Socios estratégicos:

CINDEFI: Planta piloto para fermentación hasta 100 lts y downstream

Beneficial Germs SA: Planta producción habilitada por SENASA y ANMAT con varios probioticos en mercado veterinario. Capacidad de fermentación de 1000 lts y downstream

Provisión de sueros de distintas producciones. Adoptante final. Modelo de red

Instituto de Patobiologia: optimización de cria pollos. Evaluacion de inflamación intestinal



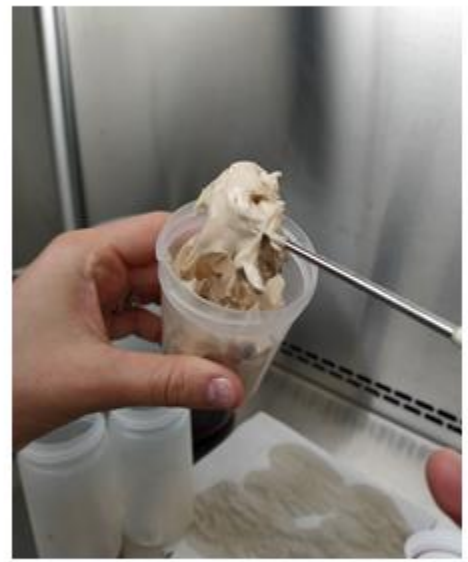

# Optimización de la obtención de levaduras a escala plata piloto

Se inocularon 2,7 l de **permeado 2%** p/v con 300 ml de cultivo *K marxianus* CIDCA 9121
(YPD 12 h 30°C)

A las 19 h se comenzó la alimentación con **permeado 15% p/v adicionado con peptona 2% p/v y extracto de levadura 1% p/v** alcanzando un volumen final de **4,5 l**

Al cabo de 23 h de cultivo continuo a 30°C, se centrifugó todo el volumen y se obtuvó 241,69 g de biomasa de levadura

**241,69 g de biomasa húmeda**



→Recuento de levaduras viables

**$4x10^9$ UFC/gr**

→ Posee capacidad de modular la respuesta inflamatoria a nivel intestinal in vitro

# Evaluación de diferentes métodos de conservación de levaduras para ser utilizadas como suplemento probiótico en alimentos funcionales

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Obtención de biomasa de levadura

Cultivo de levadura *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 9121 en Permeado 10% p/v

Centrifugación a 6500 rpm

$1x10^{10}$ UFC/g

## Secado spray

**Formulaciones**

- Biomasa al 0,1%p/v en solución fisiológica
- Biomasa al 0,1%p/v en permeado 10%
- Biomasa al 0,1%p/v en permeado 20%

Spray-dryer BUCHI (Mini Spray Dryer B-290)

**Condiciones**

- Flujo de alimentación de 10ml/min
- Temperatura de entrada 135°
- Temperatura de salida 69±4°C,

## Liofilización

**Formulaciones**

- 2g Biomasa
- 2g Biomasa + 5 ml de permeado 10%p/v
- 2g Biomasa + 5 ml de permeado 20%p/v

FIC L1-1-E300-CRT

**Condiciones**

- Presión de vacío <13.32Pa
- Temperatura del condensador -35°C
- Temperatura de los estantes 22°C

## Extrusado

**Formulaciones**

Biomasa 4% p/v en permeado al 20%

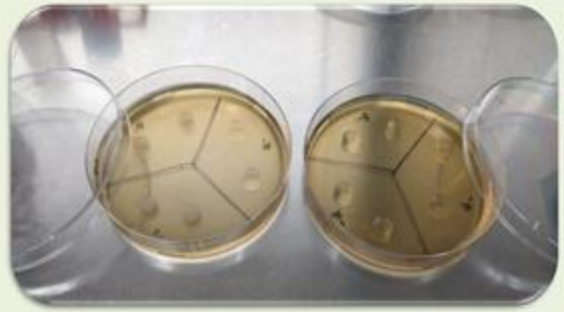
**Condiciones**

Se añadió a una formulación base de harina de trigo un 20% de la levadura suspendida en permeado y se secó a dos temperaturas diferentes :

- T= 28°C
- T= 60°C

## Recuento de UFC/g en YGC mediante técnica de la gota

Se realizaron diluciones seriadas en solución fisiológica y se sembraron 20 µl por duplicado

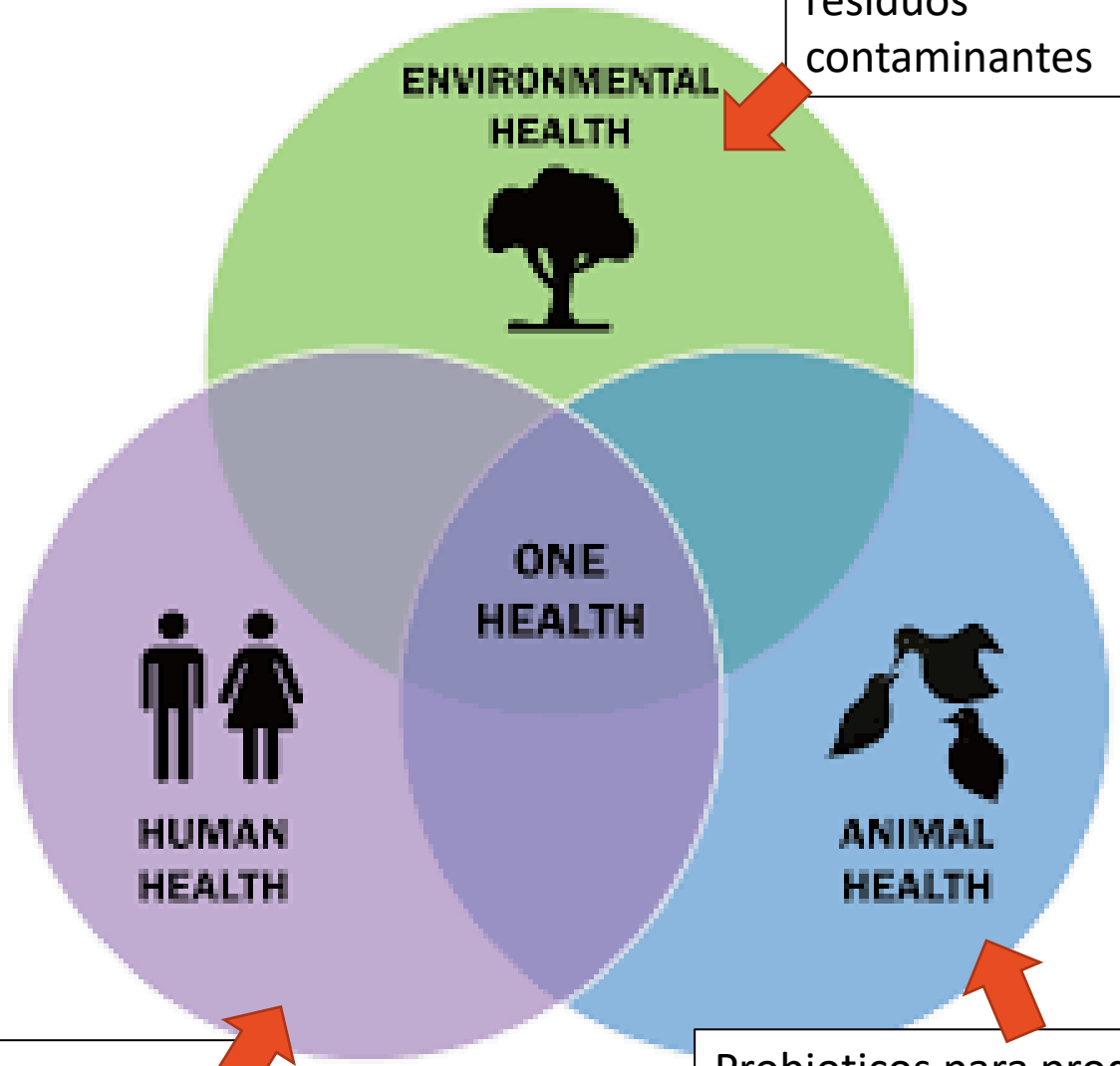


## Estabilidad durante almacenamiento a temperatura ambiente (25°C)

A todas las muestras obtenidas luego de los tratamientos se les realizó recuento de levaduras viables (UFC) en agar YGC a los 7, 16, 26 y 42 días de almacenamiento.

# Proyecto competitivo en distintas áreas:

- Debe ser llevado a escala productiva y validado en todas sus etapas en modelos de laboratorio de análisis de propiedades probioticas




Tecnología verde/eliminación de residuos contaminantes

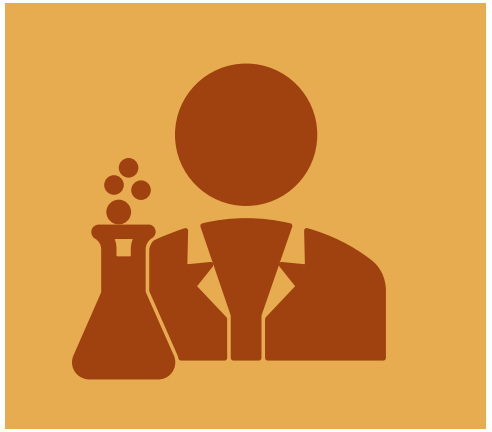
Suplementos dietarios y probioticos

Probioticos para producción animal: disminución de uso de antibióticos

# IMPACTO SOCIAL Y ECONÓMICO DE LA INNOVACIÓN PROPUESTA

- Utilización de un desecho agroindustrial generando tres productos de mayor valor agregado: generación de riqueza y puestos de trabajo
- Reducción de costos para el proceso de fabricación de quesos y otros lácteos eliminando la necesidad de tratamiento de efluentes
- Obtención de dos productos alimenticios saludables para alimentación humana y/o animal: concentrado proteico y levadura probiótica
- Obtención de un producto combustible, el biotetanol que permite la reducción de emisiones de $CO_2$ en un 85% en comparación con los combustibles fósiles;
- Reducción del éxodo rural a las grandes ciudades al generar mejores oportunidades laborales asociadas a la agroindustria.

# POSIBLES HERRAMIENTAS DE FINANCIACIÓN PARA ASOCIATIVIDAD ENTRE ACADEMIA – EMPRESA PARA LA CONTINUIDAD DEL PROYECTO

**ANPCYT/FONCYT – Proyectos de Investigación y Desarrollo (PID): Línea de ventanilla permanente**
http://www.agencia.mincyt.gob.ar/frontend/agencia/instrumento/26

**ANPCYT/FONARSEC – Alimentación Saludable:**
http://www.agencia.mincyt.gob.ar/frontend/agencia/instrumento/47. Próximo a cerrar!