



VII. Análisis y Discusión de Resultados

7.1 Caracterización de la Materia Prima

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de la materia prima utilizada como objeto de este estudio en el enriquecimiento proteico. Como puede observarse el contenido de azúcares totales cuantificado mediante la técnica de Lane y Eynon fue de 0%.

Características iniciales de la materia prima	
Az. Totales	nd
Proteína (base húmeda)	0.8%
Proteína (base seca)	0.9%
N _{Total}	0.4%
pH	4.1
Humedad	10.0%

Nd= no detectable

Tabla 2. Características iniciales de composición del sustrato cascarilla

Se obtuvo además una humedad del 10.0% y en lo que corresponde al contenido proteico de la materia prima (b. s.) se obtuvo un valor de 0.9%. Dicho valor resulta insuficiente para cubrir las necesidades alimenticias de animales en forma directa.

También hay que considerar un factor de suma importancia en el enriquecimiento proteico de esta materia prima en condiciones no asépticas, dicho factor es el pH, el cual fue de 4.1, lo cual a juicio de Hernández et al. (1975) es apropiado para el desarrollo de levaduras; por lo cual no hay necesidad de ajustarlo. Además de que a estos niveles de pH, gran parte del crecimiento bacteriano se encuentra inhibido, con lo cual se reduce ampliamente el riesgo de contaminación por este tipo de microorganismos. Esto no ocurre en el caso de los hongos, ya que el crecimiento de la mayoría de este tipo de microorganismos se realiza en estos niveles de acidez; sin embargo, ya que el crecimiento celular para este tipo de microorganismos es



considerablemente más lento, se espera que con la adición de una concentración inicial suficientemente alta de la levadura en estudio se limitará el riesgo de contaminación por hongos.

7.2 Generación del Inóculo a Nivel Laboratorio

El primer paso a considerar en un proceso fermentativo es la generación de la masa microbiana necesaria para el desarrollo del proceso. Es recomendable que primero se adapte al microorganismo a desarrollar a condiciones similares para el desarrollo del proceso industrial. No obstante, el acelerado incremento del microorganismo en un medio selectivo, apropiado para su crecimiento, justifican el estudio del desarrollo de *Candida utilis* en un medio líquido cuyas características difieran en nutrientes de las que se tendrán posteriormente en el sustrato a nivel industrial.

Para el estudio del proceso de desarrollo de inóculo se generaron dos experiencias:

A. Se estudió el proceso de desarrollo del inóculo dejando incubar a la levadura en medio líquido en una estufa a $\sim 37^\circ \text{C}$ por 24 hrs., pasadas las cuales, se dejó continuar el crecimiento microbiológico a temperatura ambiente por otras 48 hrs. (periodo total de 72 hrs).

B. Se estudió el crecimiento de la misma especie, esta vez, en una estufa a temperatura de 37°C durante todo el periodo de 72 hrs.

De acuerdo al estudio de Jaimez (1996) la concentración deseada de levadura es de $\sim 3.0\text{E}+11$ células por mililitro. Esta concentración se alcanza como se observa en la figura 7 en:

- un periodo de ~ 53 hrs. en la experiencia A.

- y en un periodo de ~ 37 hrs. para la experiencia B.

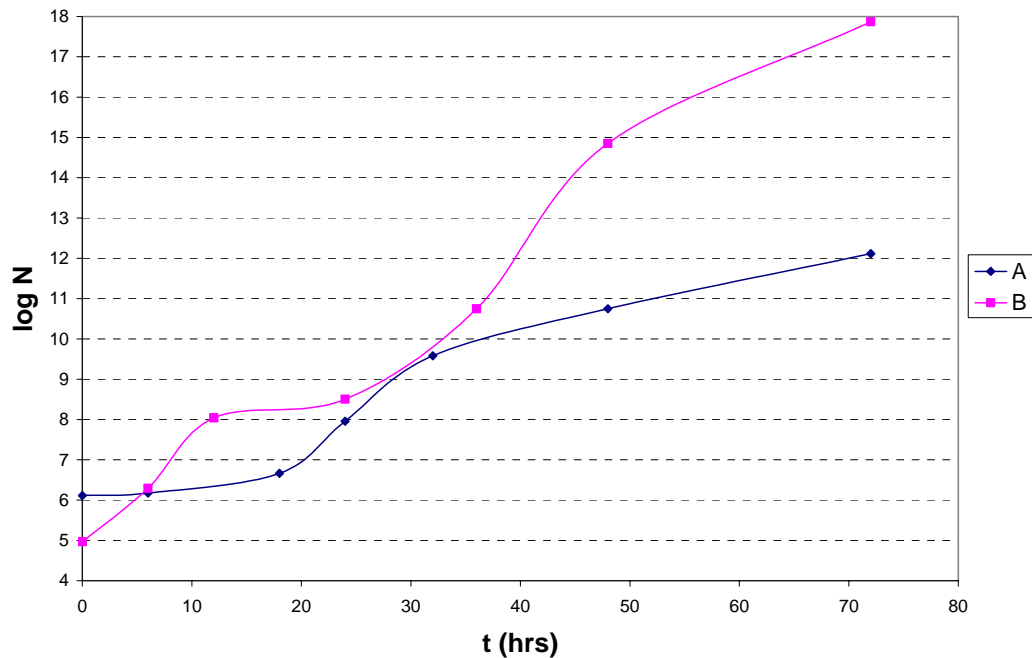


Figura 7. Desarrollo de levadura *Candida utilis* en caldo maltosa de Sabouraud enriquecido

En la figura 7 se observa también que para producción de inóculo con medio de cultivo caldo maltosa no son completamente claras las etapas del típico comportamiento del crecimiento microbiano, pero sí se observa un desarrollo importante en ambas curvas. Sin embargo, al tiempo de comparar detalladamente los dos procesos para la producción del inóculo a escala experimental, se puede apreciar que la levadura logró un mejor crecimiento al incubarse a 37° C (A) en comparación con el crecimiento que se obtuvo a temperatura ambiente y con agitación (B); alcanzándose con mayor rapidez, la concentración deseada de células, con una diferencia de tiempo de producción de dicha concentración de 16 hrs. aprox.

La concentración celular al inicio de las dos experiencias fue del orden de entre 1.0 E+06 y 1.0 E+05 células por mililitro de medio para las experiencias A y B, respectivamente; después de llevar a cabo la siembra, la experiencia A presenta la fase lag durante ~18 hrs. dicho periodo le ha permitido al microorganismo adaptarse al medio y poder aprovechar los sustratos necesarios para su desarrollo. Continúa la experiencia con el crecimiento exponencial durante el resto del periodo. La segunda experiencia (B) no presenta una clara fase de adaptación; el crecimiento exponencial se presenta durante todo el periodo de experimentación. El incremento poblacional

que alcanza la levadura al concluir el experimento, pasados 3 días de iniciado, tuvo una diferencia de aproximadamente 6 ciclos logarítmicos.

Dados los resultados previos se decidió realizar experiencias de crecimiento con control de temperatura a 37° C con medio de cultivo enriquecido (E) y no enriquecido (NE) tal y como se describe en la metodología.

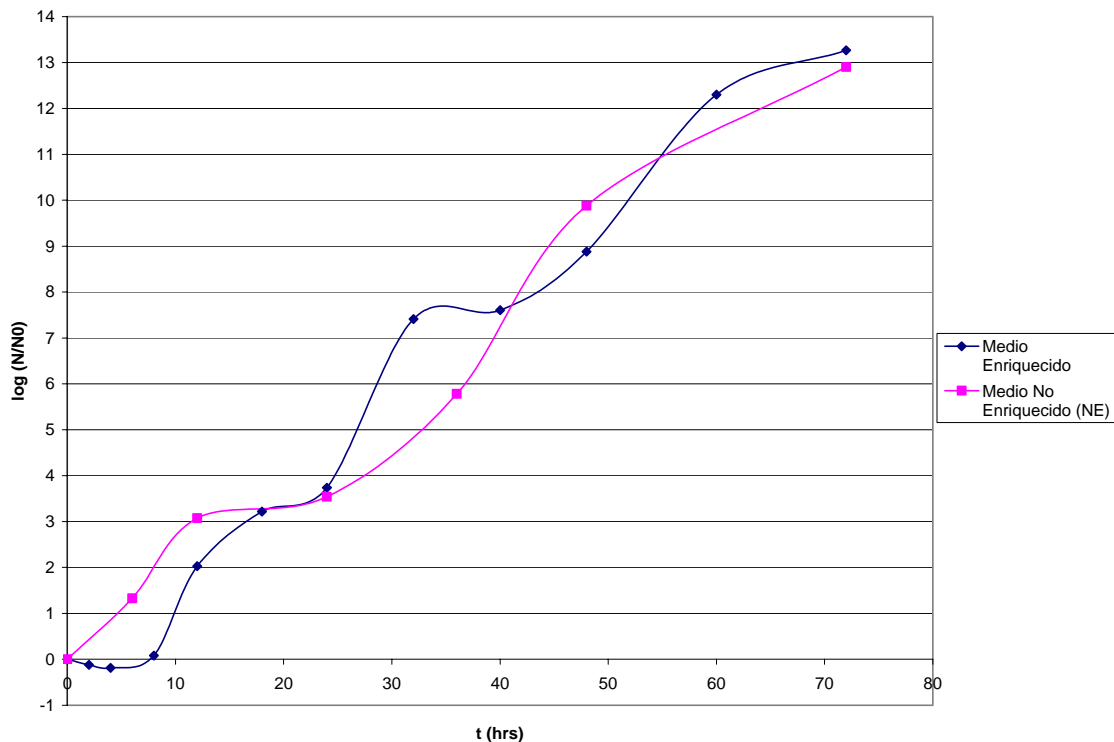


Figura 8. Diagrama de Crecimiento celular en medio líquido enriquecido (E) y no enriquecido (NE) a temperatura de 37° C

En la figura 8, se puede apreciar que la diferencia entre el crecimiento microbiano de un medio líquido de cultivo de composición definida en comparación con un medio enriquecido no fue significativo en la concentración máxima obtenida, la cual se encontró al final del periodo de experimentación (72 hrs.). Por lo anterior fue este periodo de tiempo el que se determinó como tiempo de proceso para la producción del inóculo. Las concentraciones máximas obtenidas se incrementaron en ~13 ciclos logarítmicos para el medio enriquecido y para el medio no enriquecido.



Se generaron tres nuevas curvas del crecimiento celular, esta vez, en medio no enriquecido, para la producción del inóculo que se presentan en la figura 9. Las concentraciones máximas obtenidas difieren en aprox. dos ciclos logarítmicos entre la primera (In1) y las dos últimas experiencias (In2, In3). La inoculación se realizó al terminar el periodo establecido en la sección anterior para el proceso de generación del inóculo (72 hrs.).

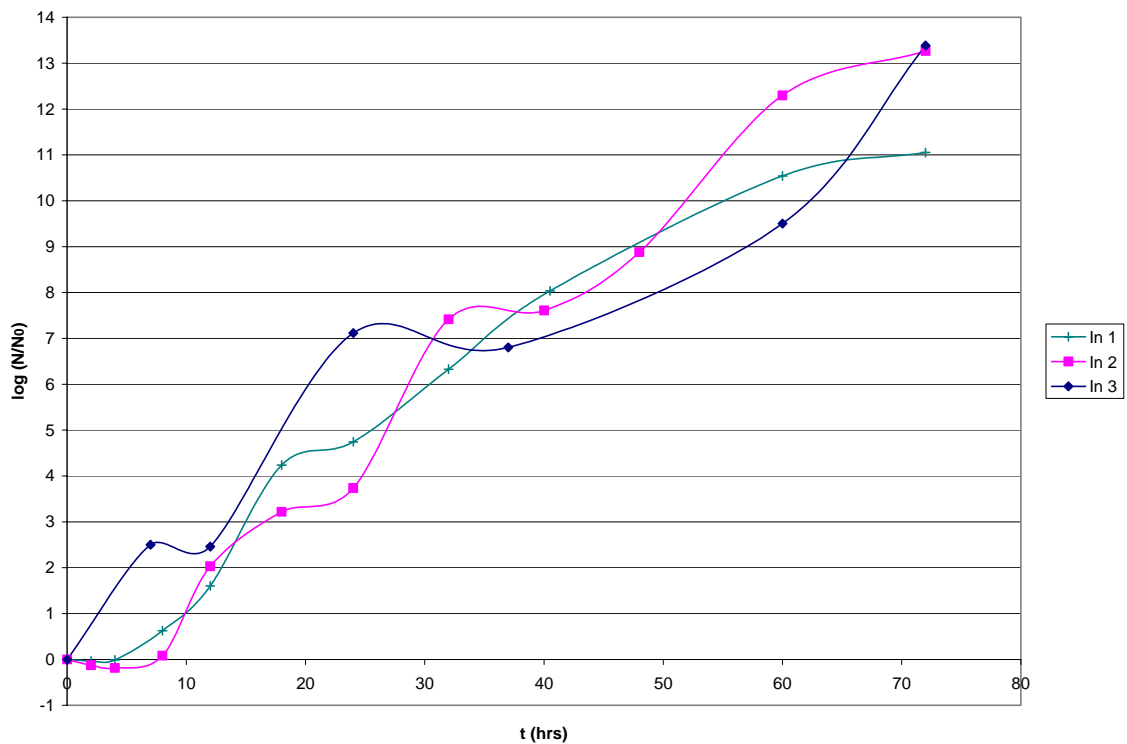


Figura 9. Diagrama de Crecimiento celular en medio líquido enriquecido a temperatura de 37° C para generación de inóculo.

7.3 Evaluación de desarrollo de *Candida utilis* en cascarilla de café

7.3.1 Efecto de la Concentración Celular Inicial

La producción del inóculo conlleva una parte importante del costo del proceso de producción de la proteína de levadura, por lo que se estudiaron el efecto de variar la cantidad de inóculo agregada al inicio del proceso de enriquecimiento. Las cantidades estudiadas fueron de 2.1, 4.2, 8.3 y 12.5% (V/P) sobre medios de cultivo desarrollados con las mismas condiciones de



crecimiento. Con el objeto de no corregir la humedad en cada una de las experiencias, no se agregó el inóculo directamente, sino que se añadió como solución inoculante cuyo valor fue de 16.5% (V/P). Dicho porcentaje incluye el porcentaje respectivo de inóculo más el resto de agua destilada, previamente esterilizada.

Para pruebas con 300 g. de sustrato cascarilla humedecida se obtuvieron las proporciones de agua e inóculo que se presentan en la tabla 3.

Bandejas con 300 gr de sustrato				
% inóculo	Inóculo (ml)	Agua destilada (ml)	Solución inoculante (ml)	Sustrato humedecido (gr)
2.1	6.25	43.75	50	250
4.2	12.5	37.5	50	250
8.3	25	25	50	250
12.5	37.5	12.5	50	250

Tabla 3. Proporciones de agua e inóculo agregados en 300g de sustrato humedecido (V/V)

En la figura 10 se presentan los resultados de crecimiento de *Candida utilis* de un experimento que se trabajó a una densidad de carga de 18 kg/m^2 y con una humedad inicial de 61%:

- I. Un primer experimento realizado en la última semana de noviembre de 2005 (con fechas de 23 a 29) con temperatura promedio de 13.6°C .

El comportamiento exponencial se desarrolla durante ~120 hrs. para esta experiencia, a partir de esta hora la velocidad del crecimiento microbiano decae. Terminado este periodo se puede suponer que la pérdida de los nutrientes del sustrato o alguna condición inhibitoria lleva a los microorganismos a la fase de muerte celular.

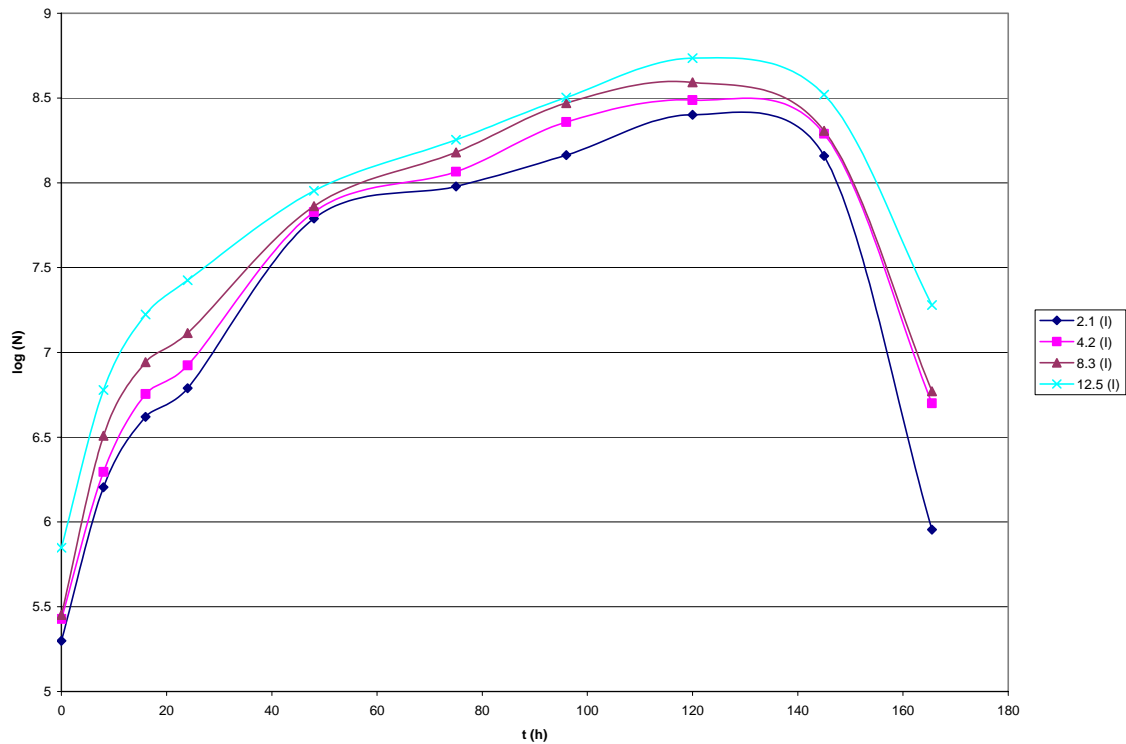


Figura 10. Curva de crecimiento de *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida con humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperatura promedio de 13.6° C

El inóculo utilizado para la experiencia I se tomó de una alícuota de 2.32E+18 células/mililitro de caldo (In1). La concentración celular al tiempo cero, ya inoculada la materia prima, se puede observar en la tabla 4 para cada uno de los porcentajes de inóculo. El valor inicial de concentración microbiana aumentaba conforme el porcentaje de inóculo lo hacía.

Concentraciones celulares iniciales	
% inóculo	(UFC/ml)
2.1	1.99E+05
4.2	2.67E+05
8.3	2.82E+05
12.5	7.03E+05

Tabla 4. Concentraciones iniciales de levadura para cada porcentaje de inóculo. Primera experiencia (I)



La tendencia no se alteró a lo largo de las 168 h (7días), la concentración más alta fue la del inóculo de 12.5% y las menor aquella perteneciente al de 2.1%. Los valores más altos que alcanzaron dichas concentraciones de células se consiguieron en el quinto día para todas las curvas de crecimiento. Lo anterior puede observarse en la tabla 5.

% inóculo	Valor máximo de concentración (UFC/ml)
2.1	2.52E+08
4.2	3.08E+08
8.3	3.92E+08
12.5	5.45E+08

Tabla 5. Concentraciones máximas de levadura para cada porcentaje de inóculo. Quinto día de la experiencia I.

Las diferencias entre las concentraciones más altas alcanzadas son muy similares entre porcentajes de inóculo en la primera experiencia.

En la figura 11 se presentan los resultados de crecimiento de *Candida utilis* de la segunda experiencia trabajada de igual forma, a una densidad de carga de 18 kg/m² y con una humedad inicial de 61%:

- II. Este segundo experimento se realizó en la segunda semana de marzo de 2006 (5 a 11) cuya temperatura ambiental promedio alcanzó los 16.5° C.

Esta réplica (II) se llevó a cabo sin corregir la humedad, cuyo comienzo fue a partir de una alícuota de 8.0E+15 células/mililitro (In 2) y el valor inicial de concentración celular en sustrato se puede observar en la tabla 6.

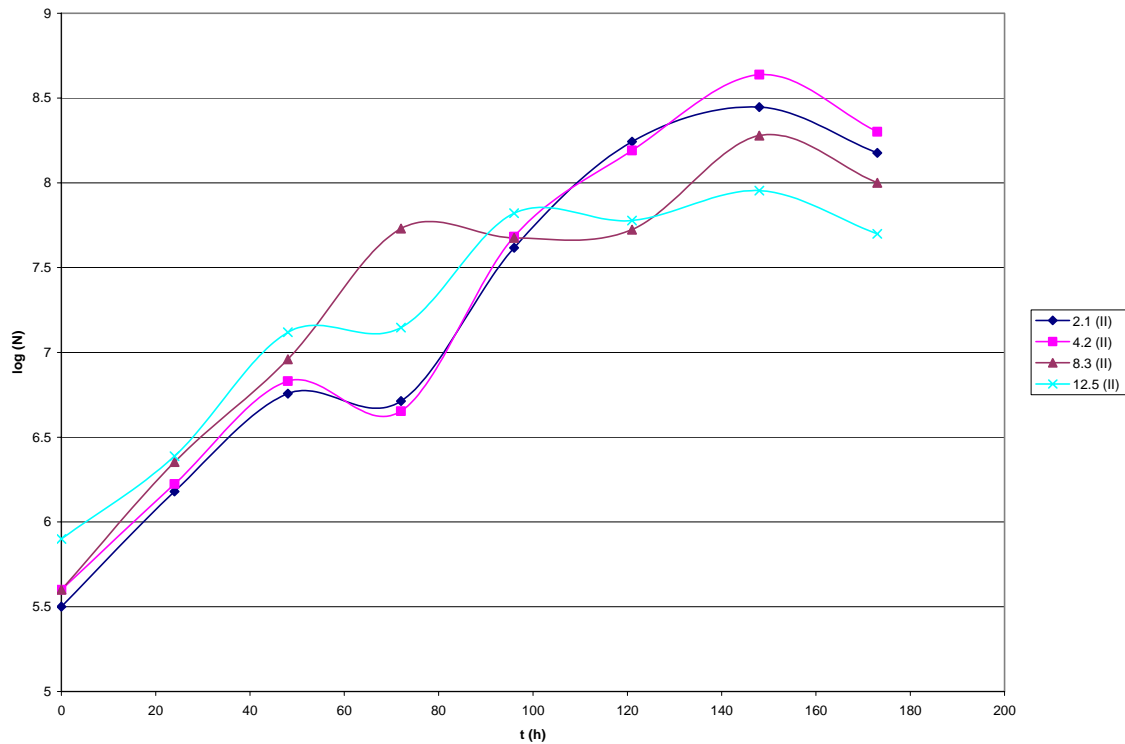


Figura 11. Curva de crecimiento de *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida con humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperaturas promedio de 16.5° C.

Concentraciones celulares iniciales	
% inóculo	(UFC/ml)
2.1	3.16E+05
4.2	3.98E+05
8.3	3.98E+05
12.5	7.94E+05

Tabla 6. Concentraciones iniciales de levadura para cada porcentaje de inóculo. Experiencia (II)

Esta vez la tendencia no siguió el mismo patrón: los porcentajes de inóculo más pequeños alcanzaron las concentraciones microbianas más elevadas, como se aprecia en la figura 11 y viceversa. El tiempo en que alcanzaron el máximo crecimiento fue el sexto y las concentraciones de este día se observan en la tabla 7.



% inóculo	Valor máximo de concentración. (UFC/ml)
2.1	2.80E+08
4.2	4.35E+08
8.3	1.90E+08
12.5	9.00E+07

Tabla 7. Valores máximos de concentración celular obtenidos para la segunda experiencia (II) en el sexto día.

El crecimiento exponencial para esta segunda experiencia se presentó de manera prolongada hasta el sexto día. Al término de este tiempo la diferencia entre las concentraciones inicial y final fue de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos, como se observa en la figura 11. La etapa estacionaria parece presentarse a partir de las 130 hrs. y durante el resto de la experimentación ya que no se llega a una clara fase de muerte celular. Las diferencias entre las concentraciones más altas alcanzadas no son importantes conforme se aumenta el porcentaje de inóculo.

Comparando los dos experimentos se puede constatar que la diferencia entre la concentración inicial y la máxima obtenida es de aproximadamente tres ciclos logarítmicos para ambas experiencias y para cada uno de los porcentajes de inóculo como se observa en la tabla 8. La diferencia de temperatura, como dice la Universidad Pública de Navarra (1995), es de los factores ambientales que más influye en el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, para nuestro estudio la diferencia de temperatura entre las dos experiencias fue de un promedio de 3° C, cuyo efecto aparentemente repercute en el tiempo para alcanzar la fase estacionaria.

Concentraciones microbianas (UFC/ml)				
	(I)		(II) (r)	
% inóculo	Inicial	Máxima	Inicial	Máxima
2.1	1.99E+05	1.44E+08	3.16E+05	2.80E+08
4.2	2.67E+05	1.95E+08	3.98E+05	4.35E+08
8.3	2.82E+05	2.03E+08	3.98E+05	1.90E+08
12.5	7.03E+05	3.32E+08	7.94E+05	9.00E+07

Tabla 8. Comparación de los valores iniciales y máximos obtenidos de concentración celular entre ambas experiencias.



La diferencia del crecimiento de levadura entre los porcentajes de inóculo para cada experiencia por separado dependió de la concentración de células iniciales sembradas en el sustrato (inóculo). Entre inóculos de una experiencia, una variación poco apreciable en el crecimiento celular al cambiar la concentración celular es que el tiempo de proceso se reduce al incrementar la cantidad del inóculo, dicha reducción es poco significativa.

7.3.2 Efecto de la Humedad Inicial

En la figura 12 se presentan los resultados de crecimiento de *Candida utilis* de un experimento que se trabajó a una densidad de carga de 18 kg/m² y variándose únicamente la humedad inicial, esta vez con valor de 80%:

- a. Realizado en la última semana de noviembre de 2005 con temperatura ambiental de 13.6° C.

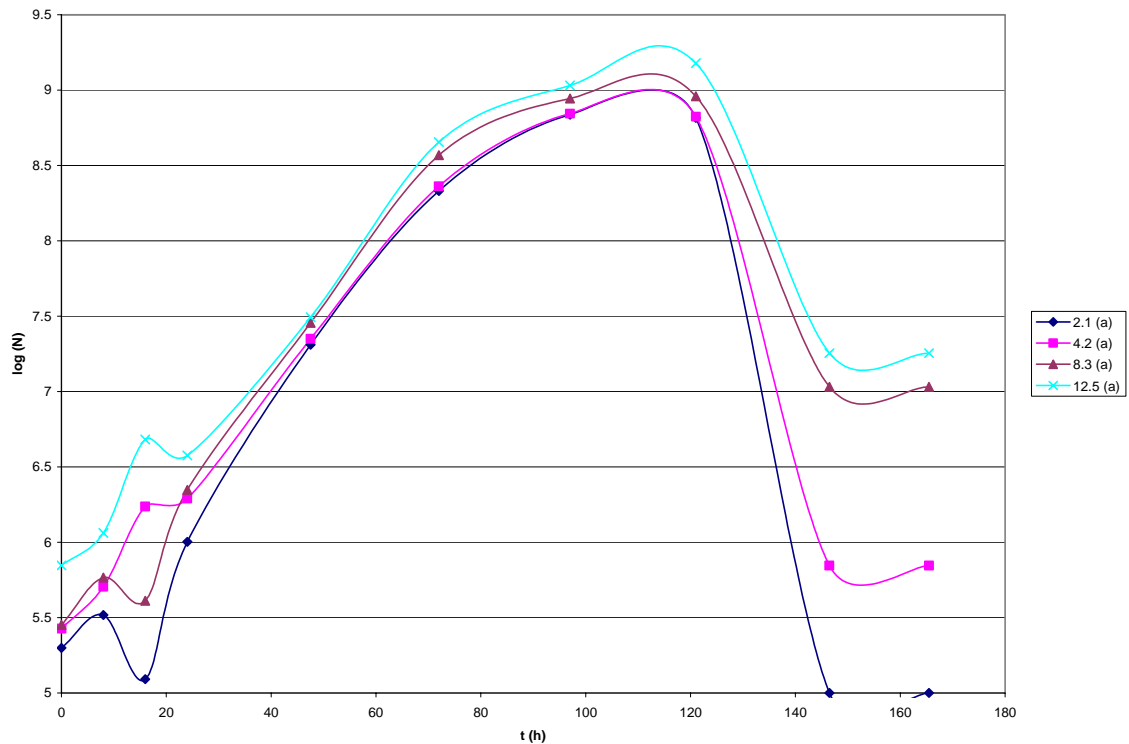


Figura 12. Crecimiento de *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida con humedad = 80%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperaturas promedio de 13.6° C para la primera experiencia



Para esta experiencia (a) no se observa claramente la etapa de adaptación del microorganismo. No obstante, el crecimiento exponencial inicia casi inmediatamente después de la inoculación y durante ~97 hrs. Transcurrido este periodo comienza la fase estacionaria, la cual termina hasta ~121 hrs. dando paso al periodo de muerte celular hasta el término del experimento.

La familia de curvas de la primera experiencia (a) se generaron de una alícuota cuya concentración fue de $2.32E+18$ (In1, mencionado en la sección anterior). Los resultados de las concentraciones iniciales una vez realizada la inoculación se presentan en la tabla 9. Dichas concentraciones aumentaron a medida que lo hacía el porcentaje de inóculo

Concentraciones celulares iniciales	
% inóculo	(UFC/ml)
2.1	$1.79E+05$
4.2	$2.47E+05$
8.3	$2.62E+05$
12.5	$6.83E+05$

Tabla 9. Concentraciones iniciales de levadura para cada porcentaje de inóculo. Primera experiencia (a)

Las concentraciones microbianas máximas se obtuvieron a las 97 hrs. para los porcentajes de inóculo más bajos y a las 121 hrs. para los inóculos de mayor porcentaje y se presentan en la tabla 10. Las tendencias no se corrigieron: a mayor porcentaje de inóculo, mayor cantidad de concentración de células inicial y mayor valor de concentración máxima obtenida

% inóculo	Valor máximo de concentración. (UFC/ml)	Tiempo (h)
2.1	$6.88E+08$	97
4.2	$6.98E+08$	97
8.3	$9.09E+08$	121
12.5	$1.51E+09$	121

Tabla 10. Concentraciones máximas de levadura para cada porcentaje de inóculo en la experiencia a.



Las diferencias de crecimiento no son significativas aunque al final se pueden apreciar diferencias mayores en la etapa de muerte celular.

En la figura 13 se aprecian los resultados de crecimiento de *Candida utilis* del experimento (b), trabajado a una densidad de carga de 18 kg/m^2 con una humedad inicial de 80%:

- b. Realizado en la última semana de noviembre de 2005 con temperatura ambiental de 13.6°C .

La experiencia b se generó a partir de una alícuota de $8.0\text{E}+15$ (In2). Como se observa en la figura 13 se presentan los siguientes comportamientos para esta familia de curvas:

- 2.1%. La etapa de adaptación nuevamente no es clara. El crecimiento exponencial se da casi instantáneamente después de la inoculación y hasta ~ 121 hrs. Al terminar este periodo la concentración comienza a reducirse.
- 4.2, 8.3 y 12.5%. La fase lag no es clara al igual que en el menor porcentaje de inóculo. El crecimiento exponencial se presenta casi iniciada la inoculación; este periodo abarca hasta ~ 72 hrs. Entre esta hora y ~ 121 hrs. se observa la fase estacionaria, en la que no hay cambio en el número de microorganismos. Al terminar esta etapa la concentración de viables empieza a disminuir.

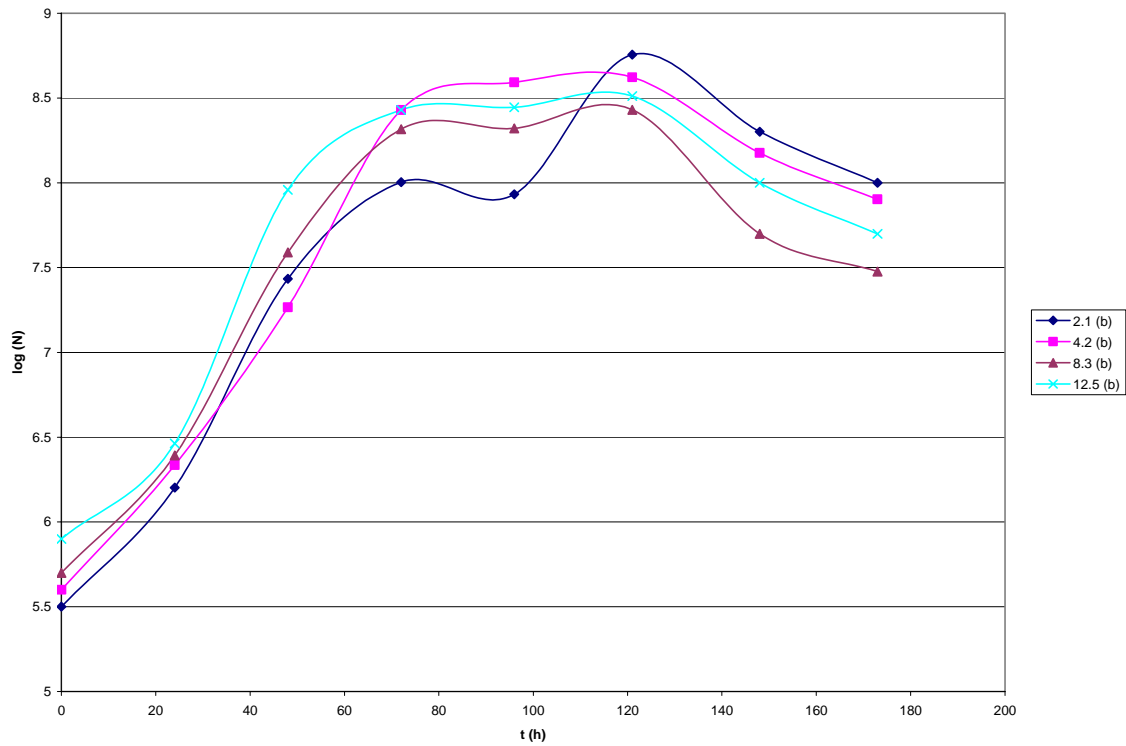


Figura 13. Crecimiento de *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida con humedad = 80%, densidad de carga = 18 kg/m²y temperaturas promedio de 16.5° C

En la tabla 11 se presentan las concentraciones celulares iniciales para cada porcentaje de inóculo en esta experiencia (b). Como en las experiencias anteriores, las concentraciones aumentaban respectivamente con el porcentaje de inóculo.

Concentraciones celulares iniciales	
% inóculo	(UFC/ml)
2.1	3.16E+05
4.2	3.98E+05
8.3	5.01E+05
12.5	7.94E+05

Tabla 11. Concentraciones iniciales de levadura para cada porcentaje de inóculo en la experiencia b.



Las concentraciones máximas se obtuvieron para toda la familia de curvas en el quinto día. Las concentraciones más altas pertenecieron a los porcentajes de inóculo menores. Dichas concentraciones no difieren de manera importante como se observa en la tabla 12.

% inóculo	Valor máximo de concentración. (UFC/ml)
2.1	5.70E+08
4.2	4.20E+08
8.3	2.70E+08
12.5	3.25E+08

Tabla 12. Valores máximos de concentración celular obtenidos para la segunda experiencia (b)

Las concentraciones máximas obtenidas comparando las experiencias son similares, con una variación no mayor de un ciclo logarítmico, como se observa en la tabla 13.

Concentraciones microbianas (UFC/ml)				
	(a)		(b)	
% inóculo	Inicial	Máxima	Inicial	Máxima
2.1	1.99E+05	6.88E+08	3.16E+05	5.70E+08
4.2	2.67E+05	6.98E+08	3.98E+05	4.20E+08
8.3	2.82E+05	9.09E+08	5.01E+05	2.70E+08
12.5	7.03E+05	1.51E+09	7.94E+05	3.25E+08

Tabla 13. Comparación de los valores iniciales y máximos obtenidos de concentración celular entre experiencias (a) y (b).

La diferencia del crecimiento de levadura entre los porcentajes de inóculo para cada experiencia fue de tres ciclos logarítmicos, y las concentraciones microbianas finales tuvieron valores similares.

Se realizó un tercer experimento (III) trabajado bajo las siguientes condiciones:

- Densidad de carga de 36 kg/m²
- Temperatura ambiente de 13.8° C (primera semana de abril de 2006)
- Concentración final de curva de crecimiento para inoculación de 7.6 E+17 (In3)
- Porcentajes de inóculo de 2.1 y 12.5%



El crecimiento celular que presentó la levadura *Candida utilis* en dicho experimento mostró las 4 fases típicas del desarrollo microbiano para el inóculo de menor porcentaje, mientras que para el inóculo mayor, el crecimiento se mantuvo constante a partir del primer día y hasta el quinto, como se observa en la figura 14.

Los resultados de las concentraciones iniciales después de la inoculación y las concentraciones máximas obtenidas en este experimento se presentan en las tablas 14 y 15, respectivamente.

Concentraciones celulares iniciales	
% inóculo	(UFC/ml)
2.1	1.34E+05
12.5	4.20E+05

Tabla 14. Concentraciones iniciales de levadura para cada porcentaje de inóculo en la experiencia b.

% inóculo	Valor máximo de concentración (UFC/ml)
2.1	3.20E+08
12.5	6.00E+07

Tabla 15. Valores máximos de concentración celular obtenidos para la segunda experiencia (b)

La diferencia entre las concentraciones inicial y máxima es de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos para la concentración menor y de 2 ciclos logarítmicos para el porcentaje mayor.

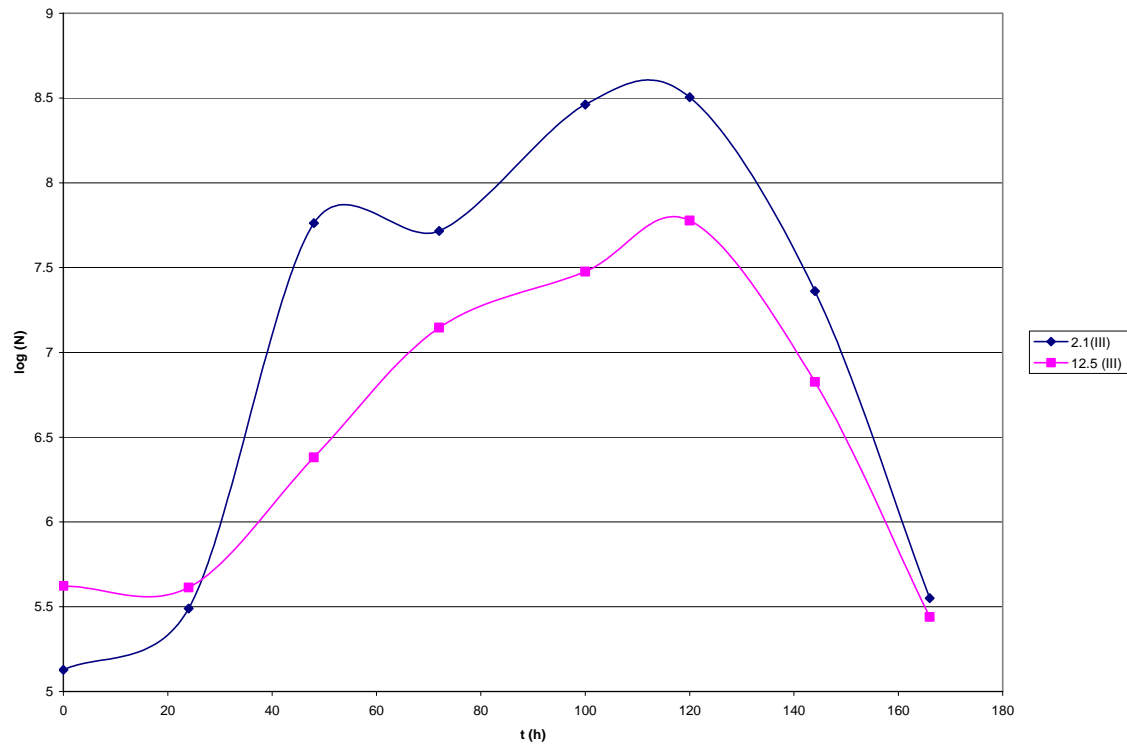


Figura 14. Crecimiento de levadura *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida con humedad = 61%, densidad de carga = 36 kg/m² y temperaturas promedio de 13.8° C.

En la figura 14 se observa un claro descenso en la población microbiana después de 121 hrs. de experimentación.

7.4 Efecto de la densidad de carga sobre el Proceso de Crecimiento de Levadura.

Como es de esperarse las condiciones de manejo y el área destinada para el proceso fermentativo se encuentra en función de la densidad de carga utilizada en el proceso, la cual a su vez tiene implicaciones económicas sobre el costo del mismo. Por tal motivo en el estudio se evaluó el efecto de la densidad de carga sobre el crecimiento microbiano.

Al comparar con las experiencias I (humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperatura promedio de 13.6° C), II (humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperaturas promedio de 16.5° C) y III (humedad = 61%, densidad de carga = 36 kg/m² y temperaturas promedio de 13.8° C) se observan los siguientes resultados, como se aprecia en la figura 15:

- (I) y (III) llegan a la concentración máxima en el quinto día y ambas tienen una clara fase de muerte microbiana con diferencia de un día.
- Todas comienzan con aproximadamente la misma cantidad de inóculo.
- La concentración microbiana máxima se obtuvo para la experiencia (I).
- Entre mayor es la concentración del inóculo se desarrolla un mayor crecimiento celular en sustrato para la experiencia (I) mientras que para (II) y (III) las concentraciones finales mayores se obtuvieron con el porcentaje de inóculo más pequeño, sin ser estas diferencias significativas (un ciclo logarítmico).

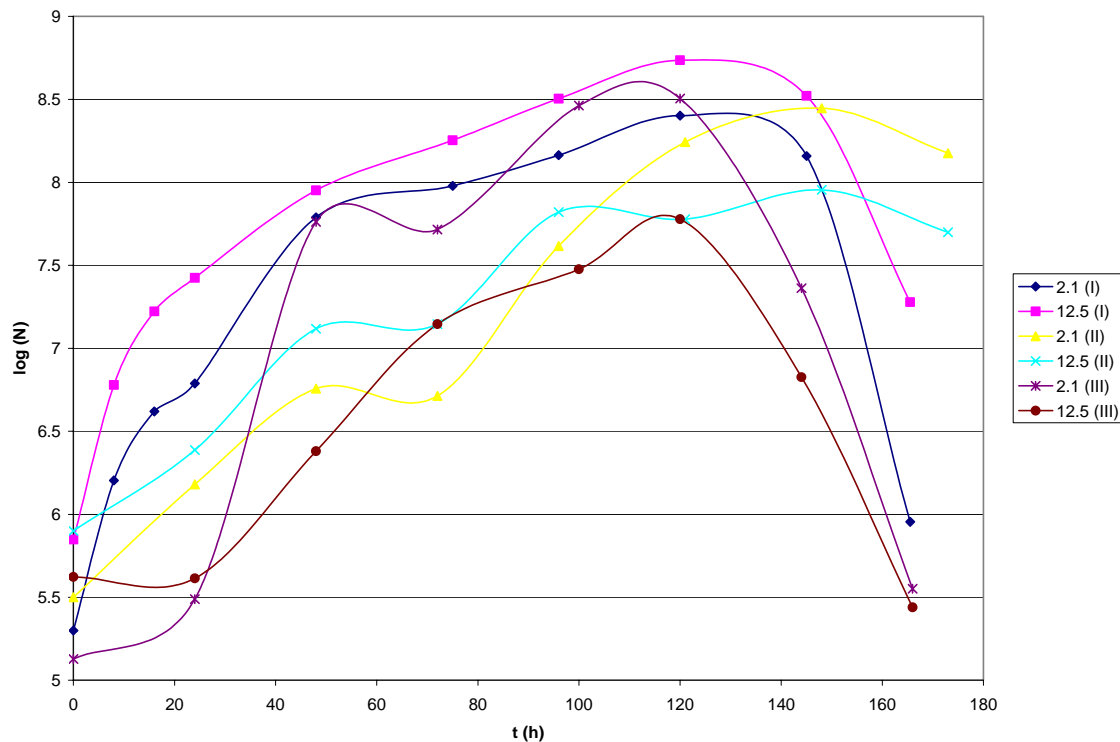


Figura 15. Crecimiento de levadura *Candida utilis* en cascarilla de café enriquecida. Experiencias (I), (II) y (III)

7.4.1 Humedad

La humedad fue cuantificada después de la aireación, una vez homogenizada ésta en la materia prima, sin embargo, debido a la gran heterogeneidad del sustrato y a la extracción, en propósito de mantener condiciones asépticas, se observan las amplias variaciones de humedad. Los porcentajes de humedad de la experiencia (I) se presentan en la figura 16.

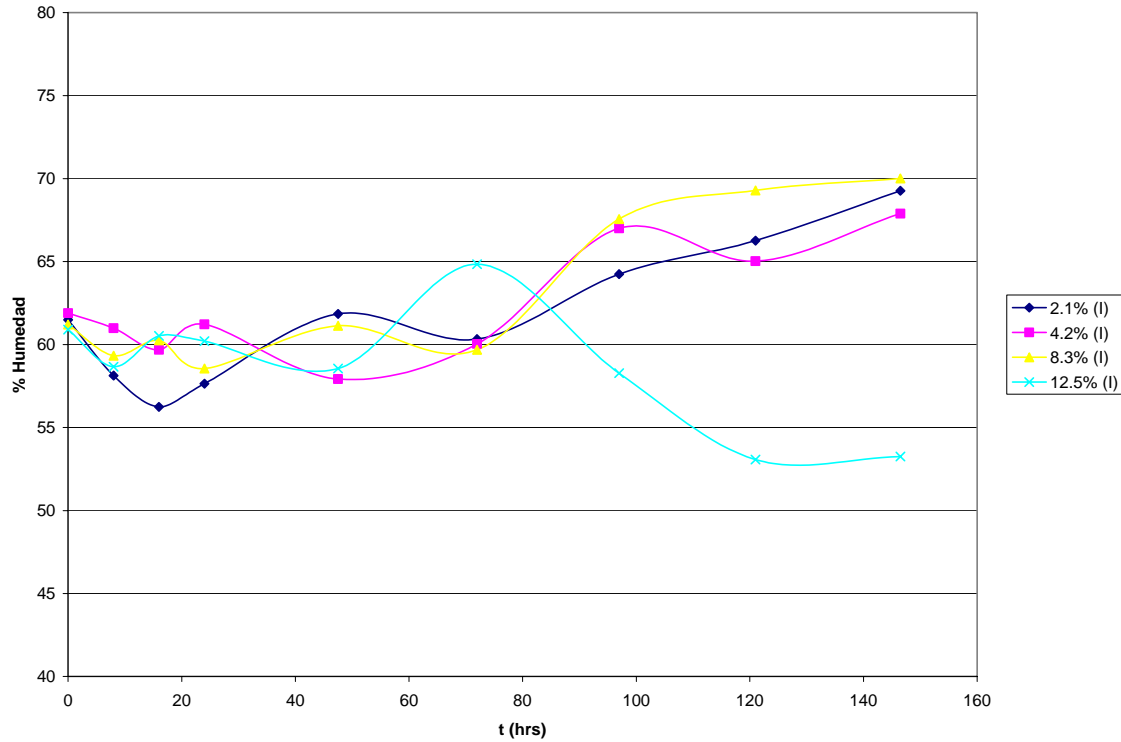


Figura 16. Diagrama de humedad en función del tiempo densidad de carga =18 kg/m². Temperaturas promedio de 13.6°

Los valores máximos de variación de humedad que se presentaron fueron de aproximadamente 13%.

El sustrato mantenía porciones de material reseco en la superficie y la cantidad de humedad aumentaba en las partes más internas de las bandejas. Debido a esto y a pesar de la homogenización, las fluctuaciones en el porcentaje de humedad en la experiencia (II) son similares a las de la experiencia anterior como se observa en la figura 17. Los valores de fluctuación entre humedades del mismo inóculo alcanzaron un máximo de ~17%.

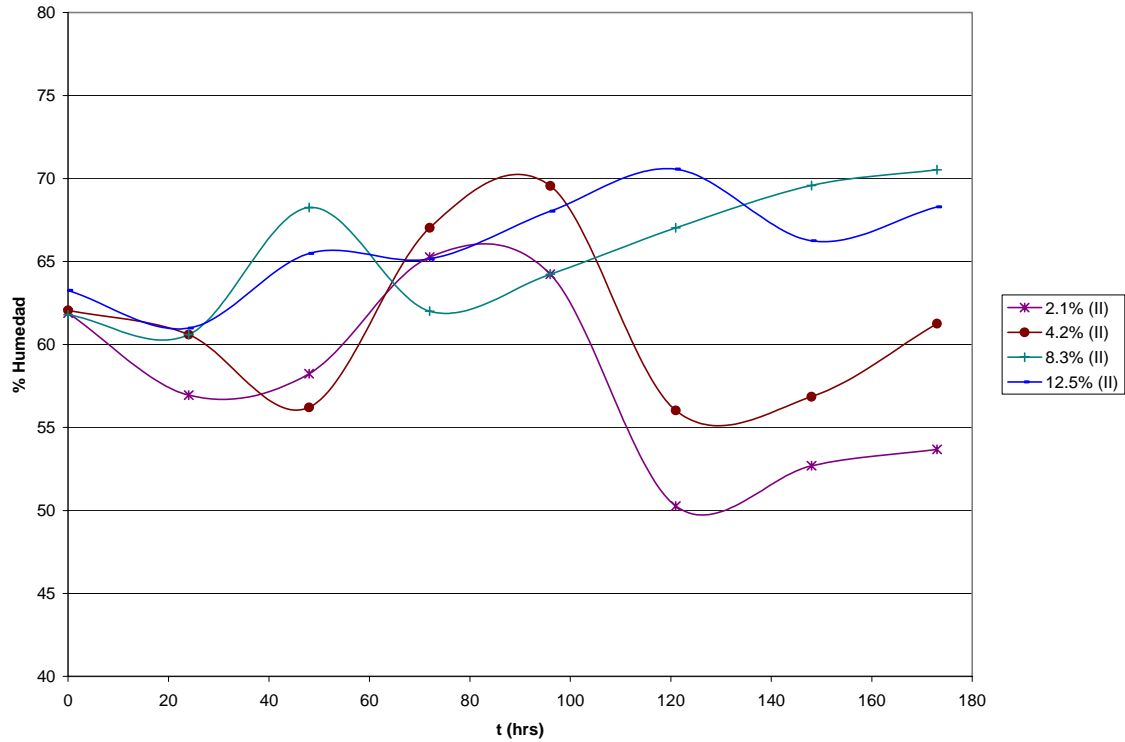


Figura 17. Diagrama de humedad en función del tiempo densidad de carga =18 kg/m².y temperaturas promedio de 16.5°

Los porcentajes de humedad de la experiencia (a) se presentan en la figura 18. Con el fin de mantener la humedad constante para estas experiencias, la muestra fue tomada con una homogenización más uniforme y se evitó la acción aireadora del extractor de al campana. Los valores de los porcentajes redujeron las fluctuaciones, alcanzando en esta experiencia un máximo de 7% entre el mínimo y el máximo.

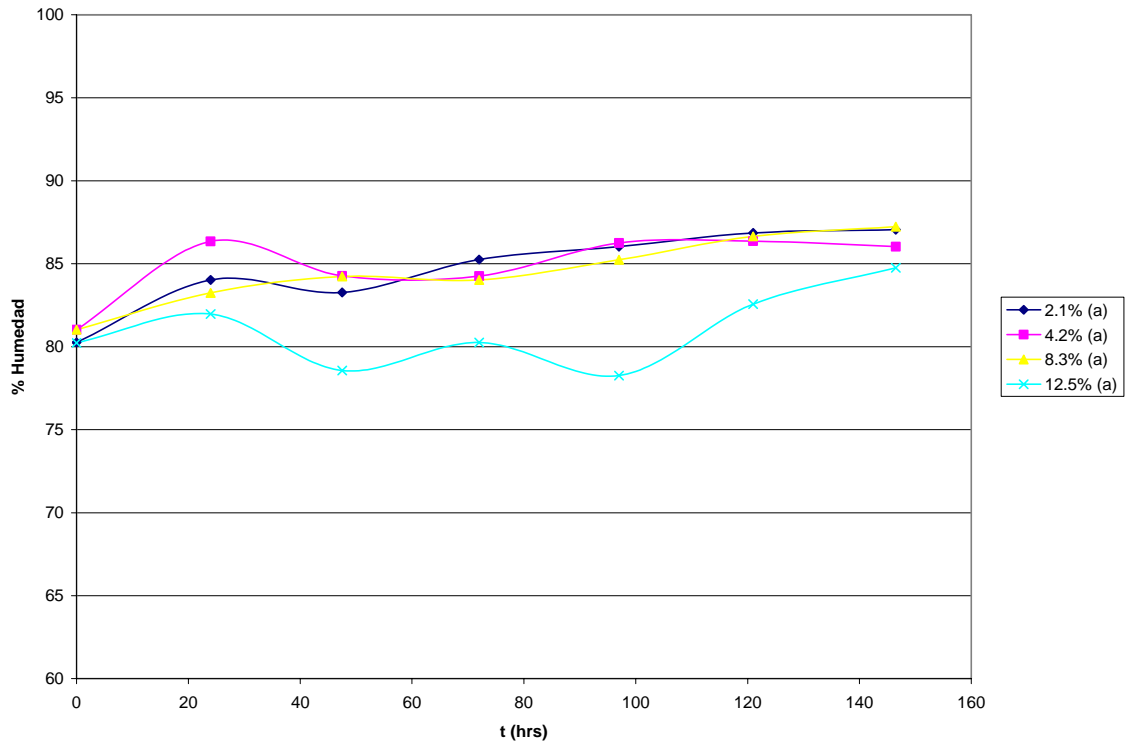


Figura 18. Diagrama de humedad en función del tiempo densidad de carga =18 kg/m² y temperaturas promedio de 13.6°

Se observan pequeñas fluctuaciones en el contenido de humedad en el sustrato en la experiencia (b), como se observa en la figura 19. De igual manera que en la experiencia anterior, los porcentajes en los que fluctuó la humedad se redujeron, alcanzando un máximo de ~6% entre las humedades mínima y máxima.

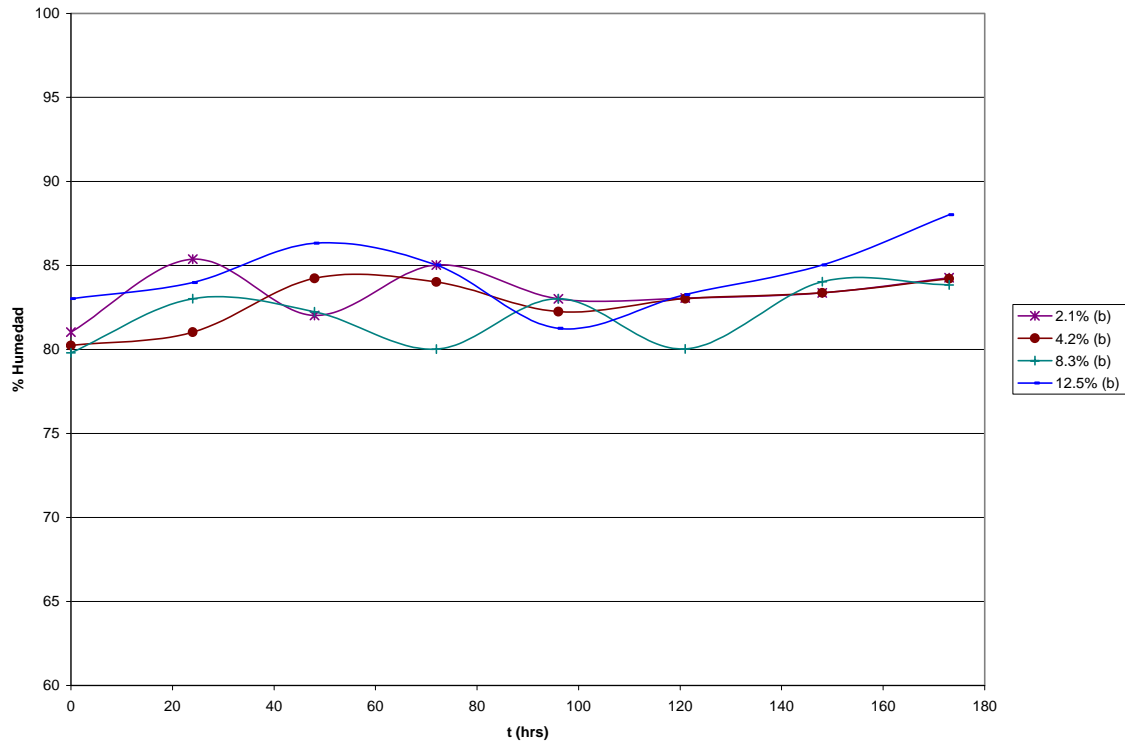


Figura 19. Diagrama de humedad en función del tiempo densidad de carga =18 kg/m² y temperaturas promedio de 16.5°

De igual forma se realizó la toma de muestra para la experiencia (III) cuyos resultados del porcentaje de humedad se observan en la figura 20. La humedad tuvo una variación no mayor del 5% para esta experiencia en ambos porcentajes de inóculo.

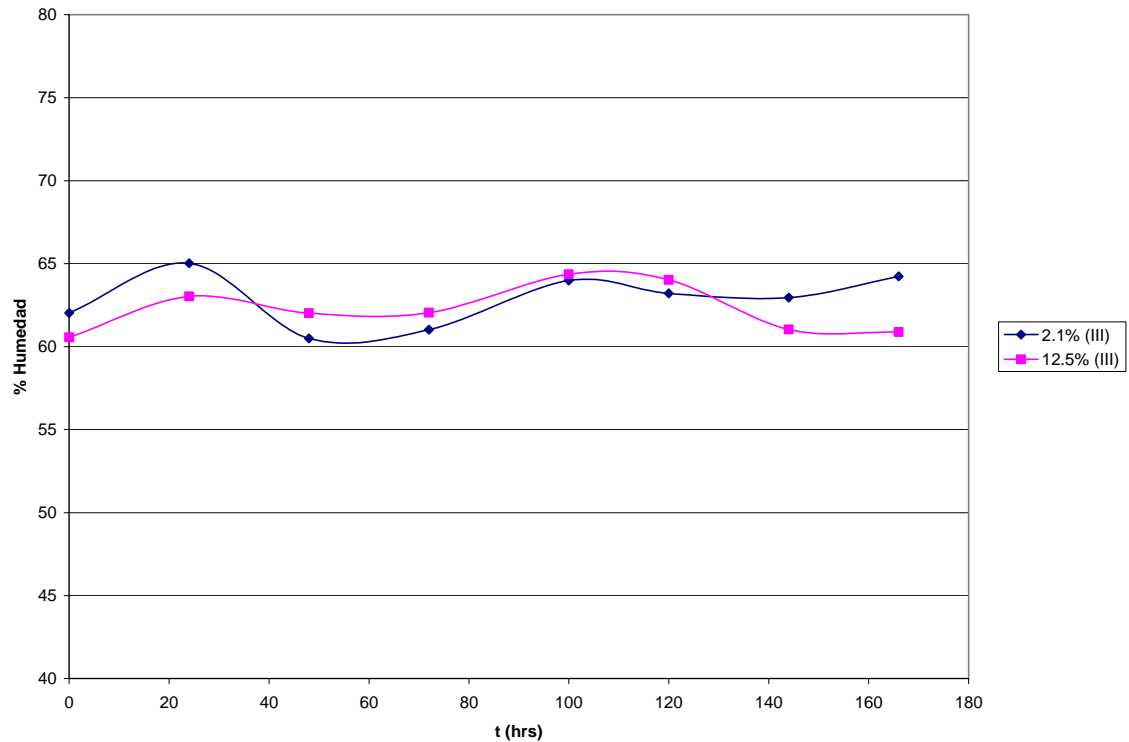


Figura 20. Diagrama de humedad en función del tiempo con densidad de carga =32 kg/m² y temperaturas promedio de 13.8°

El contenido de humedad modificó el tiempo de generación de biomasa. Los experimentos desarrollados con contenido de humedad inicial de 80% presentaron la concentración celular máxima entre 1 y 3 días antes que los de humedad inicial de 61%. Sin embargo, el crecimiento celular que presentó la levadura *Candida utilis* fue similar en ambos porcentajes de humedad; las diferencias entre las concentraciones microbianas inicial y final fue de aprox. 3 ciclos logarítmicos en cada caso.

7.4.2 Contenido proteico

La cantidad de proteína de la materia prima hace que su insumo únicamente contribuya en forma considerable como una fuente de energía y fibra. Por lo que el enriquecimiento proteico de bajo costo nos proporcionaría una fuente alternativa de proteína, energía y fibra de alta calidad.



Para disminuir cualquier error en la cuantificación del proceso de crecimiento microbiano y eliminar el efecto de la humedad los porcentajes de proteína considerados en esta sección se presentan en base seca.

En la figura 21 se presentan los resultados de porcentaje de proteína, base seca, del experimento (I) que se trabajó a una densidad de carga de 18 kg/m^2 , humedad inicial de 61% y temperatura promedio de 13.6° C .

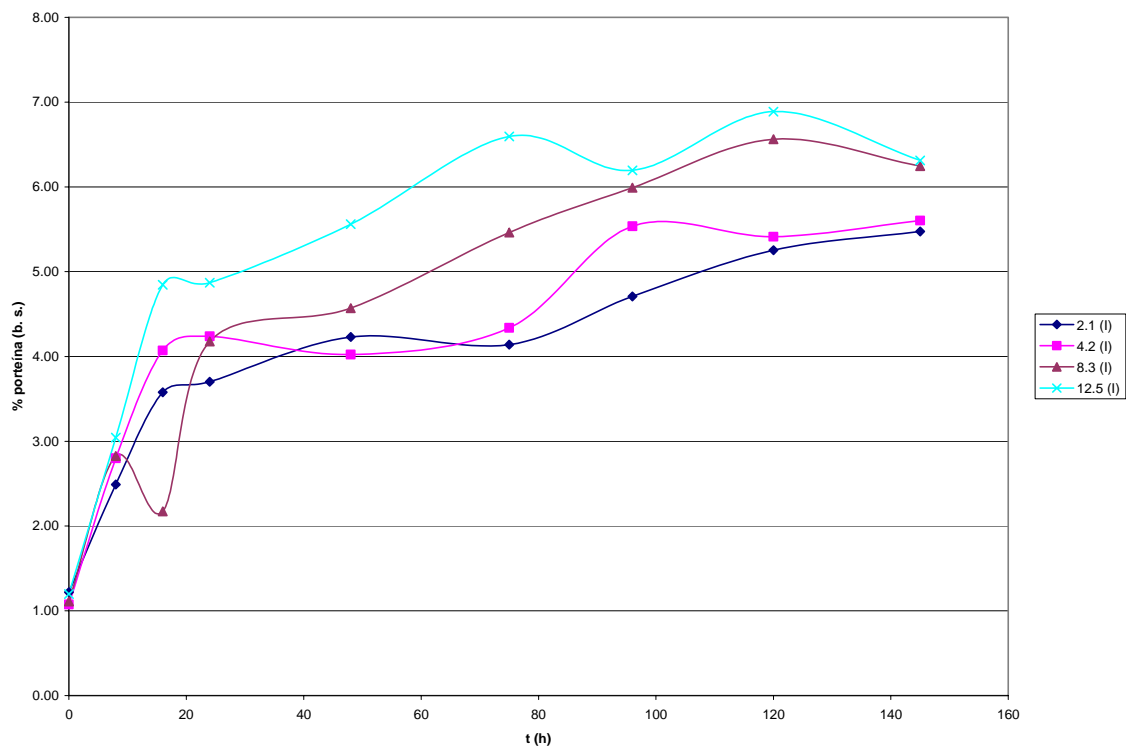


Figura 21. Diagrama de porcentaje de proteína, base seca, en función del tiempo con densidad de carga = 18 kg/m^2 y 61% de humedad. Temperaturas promedio de 13.6°

Dichos porcentajes aumentaron conforme aumentaba el porcentaje de inóculo; en esta experiencia el comportamiento del porcentaje de proteína es similar al que presentó el crecimiento celular. Los porcentajes de proteína máximos obtenidos se presentaron entre el quinto y sexto día y los resultados se presentan en la tabla 16.



% inóculo	% máximo de proteína
2.1	5.47
4.2	5.60
8.3	6.56
12.5	6.89

Tabla 16. Máximos porcentajes de proteína, base seca, obtenidos para cada porcentaje de inóculo.

El comportamiento del porcentaje de proteína que se presentó en la materia prima, después de la inoculación, dado una concentración inicial de proteína en el sustrato de 0.9%, fue el siguiente:

- Inóculos de 2.1, 4.2 % incrementaron el valor del porcentaje de proteína hasta 5.5%.
- Inóculos de 8.3, 12.5% alcanzaron 6.8% proteína

Tomando en cuenta el incremento proteico final, el incremento del porcentaje de proteína fue importante. El enriquecimiento alcanzó un promedio de 6.2% para la familia de curvas de esta experiencia.

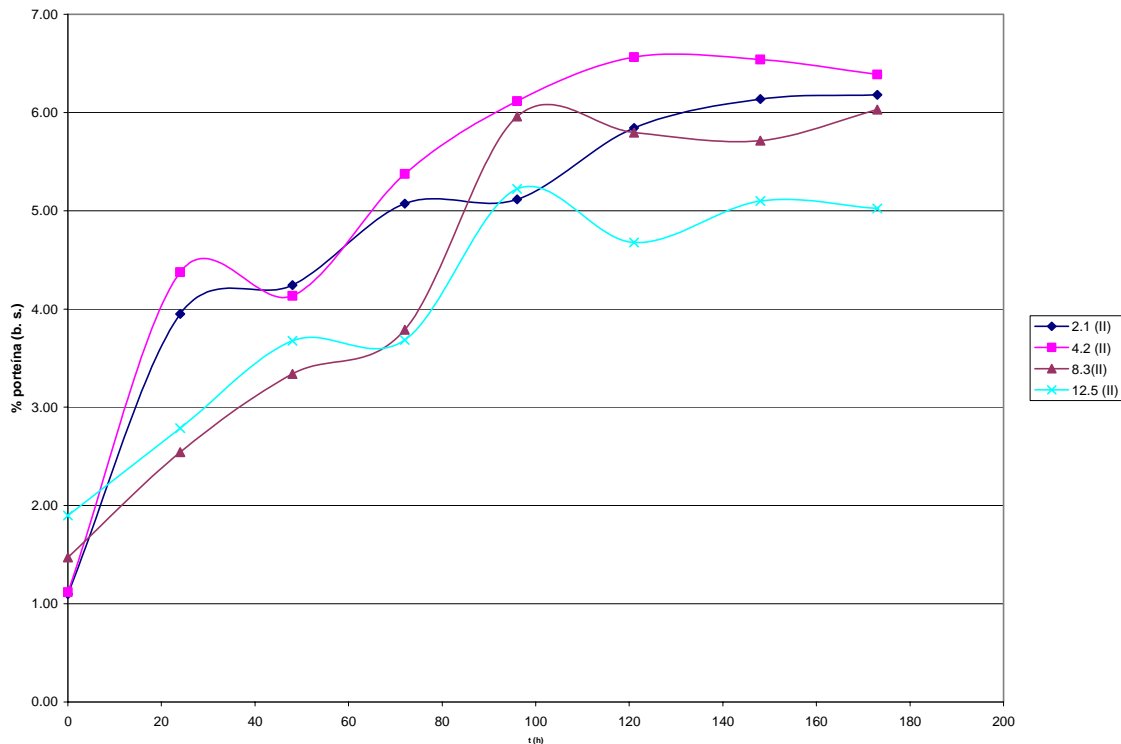


Figura 22. Diagrama de porcentaje de proteína, base seca, en función del tiempo a condiciones de humedad = 61% y densidad de carga =18 kg/m². Temperaturas promedio de 16.5°



Los resultados de porcentaje de proteína, del segundo experimento (II) que se trabajó, de igual manera, a una densidad de carga de 18 kg/m^2 , humedad inicial de 61% y temperatura promedio de 16.5°C se presentan en la figura 22. La cantidad de proteína no aumentaba conforme lo hacía el porcentaje de inóculo; se obtuvieron porcentajes máximos de proteína muy similares para las inóculos de 2.1, 4.2 y 8.3%, mientras que para el inóculo mayor el porcentaje de proteína alcanzó el 5%, como se observa en la tabla 17; los porcentajes de proteína máximos obtenidos se presentaron entre el quinto y sexto día.

% inóculo	% máximo de proteína
2.1	6.18
4.2	6.57
8.3	6.03
12.5	5.22

Tabla 17. Máximos porcentajes de proteína, base seca, obtenidos para cada porcentaje de inóculo.

Para esta experiencia el enriquecimiento proteico presentó un incremento importante. Los inóculos de menor porcentaje (2.1, 4.2 y 8.3%) alcanzaron más de 6.0% de proteína final, mientras que el inóculo de 12.5% alcanzó un 5.0%.

Se observan en la figura 23 los resultados de porcentaje de proteína del experimento (a) que fue realizado a las siguientes condiciones:

- Densidad de carga de 18 kg/m^2
- Humedad inicial de 80%
- Temperatura promedio de 13.6°C

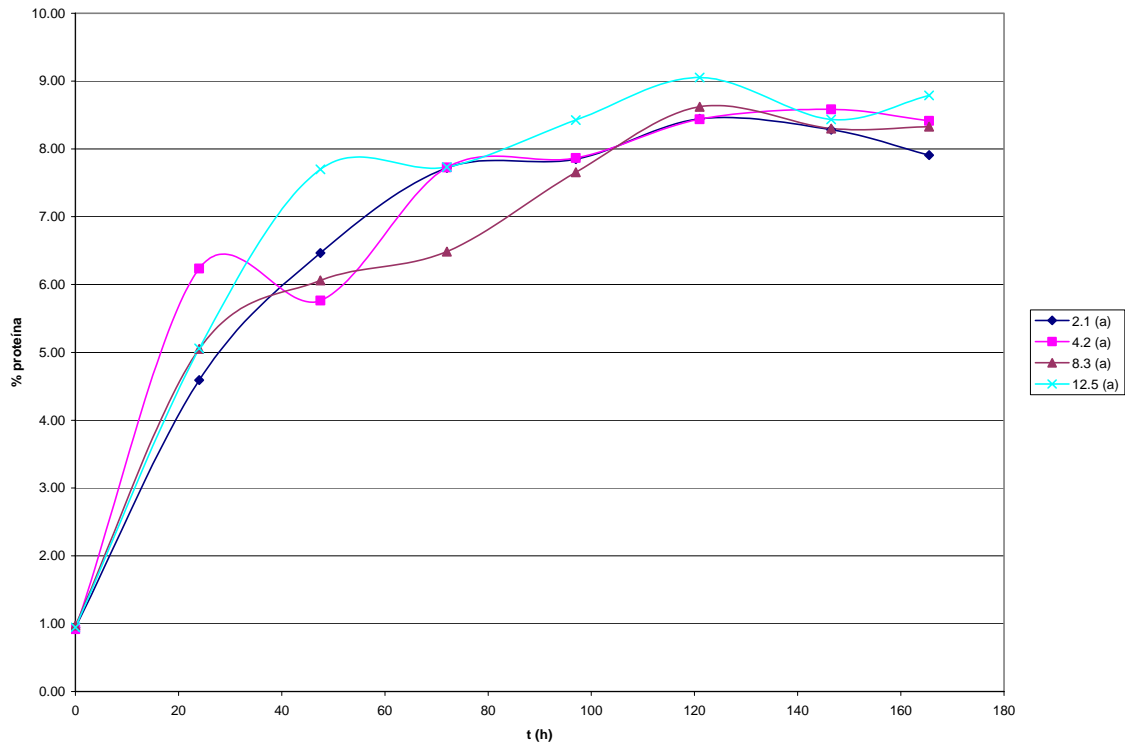


Figura 23. Diagrama de porcentaje de proteína, base seca, en función del tiempo a condiciones de humedad = 80% y densidad de carga =18 kg/m². Temperaturas promedio de 13.6°

Los porcentajes máximos de proteína se obtuvieron entre el quinto y sexto días. Dichos porcentajes fueron proporcionales con el incremento en la concentración microbiana inicial. Sin embargo, transcurrido cierto tiempo, el porcentaje de proteína no se modificó a pesar de la muerte celular de los microorganismos de cada porcentaje de inóculo. En todos los casos se alcanzó un porcentaje de proteína de entre 8 y 9%, un incremento importante. Los máximos porcentajes de proteína alcanzados no presentan una diferencia importante (menos del 1.0%), estos últimos se muestran en la tabla 18.

% inóculo	% máximo de proteína
2.1	8.44
4.2	8.58
8.3	8.33
12.5	9.05

Tabla 18. Máximos porcentajes de proteína, base seca, obtenidos para cada porcentaje de inóculo



Para la experiencia (b) en la que sólo fue modificada la condición de temperatura con respecto de la experiencia (a), esta vez de 16.5° C, se presentó el comportamiento de proteína mostrado en la figura 24.

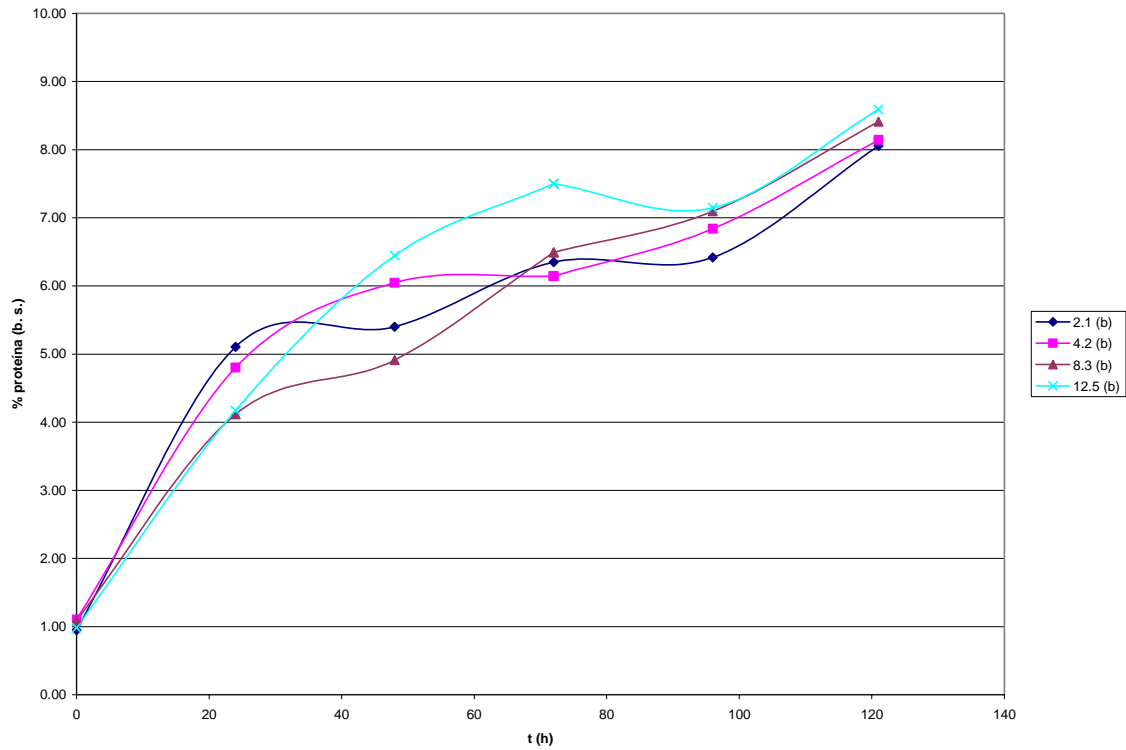


Figura 24. Diagrama de porcentaje de proteína, base seca, en función del tiempo a condiciones de humedad = 80% y densidad de carga =18 kg/m². Temperaturas promedio de 16.5°

En esta experiencia el porcentaje de proteína presentó un incremento significativo de la concentración final con respecto de la inicial. Dicho incremento alcanzó ~8.2, 8.1, 8.6 y 8.9% para los inóculos de 2.1, 4.2, 8.3 y 12.5%, respectivamente. Como se aprecia en la tabla 19, los porcentajes máximos de proteína se incrementaban conforme el porcentaje de inóculo disminuía.

% inóculo	% máximo de proteína
2.1	8.06
4.2	8.14
8.3	8.41
12.5	8.59

Tabla 19. Máximos porcentajes de proteína, base seca, obtenidos para cada porcentaje de inóculo



El incremento en la humedad modificó significativamente el porcentaje de proteína del sustrato. Los experimentos desarrollados con contenido de humedad inicial de 80% presentaron un incremento neto en el porcentaje de proteína de más del 8.0%, mientras que los sistemas con 61% de humedad inicial presentaron un incremento de aprox. 6.0%.

En la figura 25 se presentan los resultados de porcentaje de proteína, base seca, del experimento (III) que se realizó con el doble de densidad de carga con respecto de los experimentos anteriores (36 kg/m^2), humedad inicial de 61% y temperatura promedio de 13.8° C .

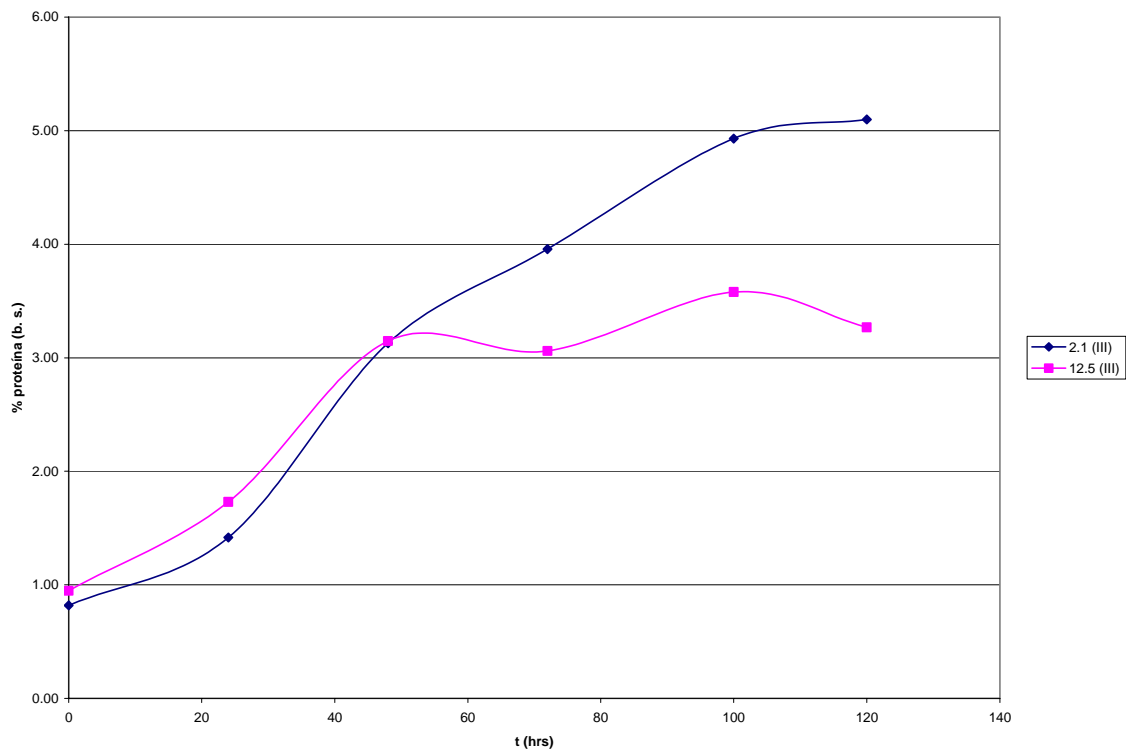


Figura 25. Diagrama de porcentaje de proteína, base seca, en función del tiempo a condiciones de humedad = 61% y densidad de carga $=36 \text{ kg/m}^2$. Temperaturas promedio de 13.8°

El incremento proteico fue de $\sim 2.5\%$ para el inóculo de 12.5% y de $\sim 4.5\%$ para el inóculo de 2.1% como se aprecia en la tabla 20; los porcentajes de proteína máximos se obtuvieron entre el cuarto y quinto días.



% inóculo	% máximo de proteína
2.1	5.10
12.5	3.58

Tabla 20. Máximos porcentajes de proteína, base seca, obtenidos para cada porcentaje de inóculo.

El enriquecimiento proteico neto desarrollado por la levadura en estudio presentó un promedio de 4.4% para la densidad de carga de 36 Kg/m² mientras que, para la densidad de carga de 18kg/m² presentó una diferencia entre el porcentaje de proteína final e inicial de 6.0%. El efecto de duplicar la densidad de carga del sustrato modificó en 1.6% de forma negativa el enriquecimiento proteico.

7.4.3 Cuantificación del efecto de la densidad de carga en el contenido proteico

El efecto de las condiciones de proceso sobre el contenido de proteína (b.s.), para las diferentes condiciones de humedad, densidad de carga, porcentaje de inóculo y temperatura se puede observar en la tabla 21.

% inóculo	Tiempo (h)	60% humedad						80% humedad			
		ρ carga = 18kg/m ²				ρ carga = 36 kg/m ²		ρ carga = 18kg/m ²			
		T (7-24o C)		T(2-23o C)		T(6-29o C)		T (7-24o C)		T(2-23o C)	
		N (UFC)	% prot (b.s.)	N (UFC)	% prot (b.s.)	N (UFC)	% prot (b.s.)	N (UFC)	% prot (b.s.)	N (UFC)	% prot (b.s.)
2.1	0	1.99E+05	1.22	3.16E+05	1.10	1.34E+05	0.83	1.79E+05	0.94	3.16E+05	0.95
2.1	24	6.15E+06	3.70	1.51E+06	3.95	3.08E+05	1.42	1.01E+06	4.59	1.59E+06	5.10
2.1	48	6.16E+07	4.23	5.71E+06	4.24	5.78E+07	3.13	2.04E+07	6.46	2.72E+07	5.40
2.1	75	9.52E+07	4.14	5.16E+06	5.07	5.20E+07	3.96	2.14E+08	7.72	1.01E+08	6.35
2.1	96	1.46E+08	4.71	4.14E+07	5.12	2.90E+08	4.93	6.88E+08	7.85	8.55E+07	6.42
2.1	120	2.52E+08	5.25	1.75E+08	5.84	3.20E+08	5.10	6.54E+08	8.44	5.70E+08	8.06
2.1	145	1.44E+08	5.47	2.80E+08	6.14	2.30E+07	4.88	1.00E+05	8.28	2.00E+08	7.55
2.1	166	9.00E+05		1.50E+08	6.18	3.55E+05	5.01	1.00E+05	7.91	1.00E+08	
4.2	0	2.67E+05	1.07	3.98E+05	1.12			2.49E+05	0.92	3.98E+05	1.10
4.2	24	8.39E+06	4.24	1.67E+06	4.38			1.95E+06	3.90	2.17E+06	4.80
4.2	48	6.72E+07	4.02	6.78E+06	4.13			2.24E+07	5.76	1.85E+07	6.05
4.2	75	1.16E+08	4.34	4.50E+06	5.37			2.30E+08	7.73	2.69E+08	6.14
4.2	96	2.28E+08	5.54	4.81E+07	6.12			6.98E+08	7.87	3.92E+08	6.84
4.2	120	3.08E+08	5.41	1.55E+08	6.57			6.66E+08	8.44	4.20E+08	8.14
4.2	145	1.95E+08	5.60	4.35E+08	6.54			7.00E+05	8.58	1.50E+08	7.33
4.2	166	5.00E+06		2.00E+08	6.39			7.00E+05	8.42	8.00E+07	
8.3	0	2.82E+05	1.11	3.98E+05	1.47			2.68E+05	0.97	5.01E+05	1.09
8.3	24	1.30E+07	4.18	2.26E+06	2.54			2.23E+06	5.05	2.47E+06	4.12
8.3	48	7.28E+07	4.57	9.10E+06	3.34			2.86E+07	6.06	3.89E+07	4.91
8.3	75	1.51E+08	5.46	5.38E+07	3.79			3.70E+08	6.49	2.07E+08	6.49
8.3	96	2.95E+08	5.99	4.74E+07	5.96			8.80E+08	7.65	2.10E+08	7.09
8.3	120	3.92E+08	6.56	5.30E+07	5.80			9.09E+08	8.62	2.70E+08	8.41



8.3	145	2.03E+08	6.25	1.90E+08	5.71			1.08E+07	8.30	5.00E+07	8.13
8.3	166	5.90E+06		1.00E+08	6.03			1.08E+07	8.33	3.00E+07	
12.5	0	7.03E+05	1.20	7.94E+05	1.90	4.20E+05	0.95	6.99E+00	0.94	7.94E+05	0.99
12.5	24	2.66E+07	4.87	2.44E+06	2.79	4.11E+05	1.73	3.77E+06	5.06	2.90E+06	4.17
12.5	48	8.96E+07	5.56	1.31E+07	3.68	2.40E+06	3.15	3.11E+07	7.70	9.10E+07	6.45
12.5	75	1.79E+08	6.60	1.40E+07	3.68	1.40E+07	3.06	4.52E+08	7.73	2.69E+08	7.50
12.5	96	3.19E+08	6.20	6.62E+07	5.22	3.00E+07	3.58	1.08E+09	8.43	2.79E+08	7.15
12.5	120	5.45E+08	6.89	6.00E+07	4.68	6.00E+07	3.27	1.51E+09	9.05	3.25E+08	8.59
12.5	145	3.32E+08	6.31	9.00E+07	5.10	6.70E+06	3.19	1.80E+07	8.43	1.00E+08	8.15
12.5	166	1.90E+07		5.00E+07	5.02	2.75E+05	3.13	1.80E+07	8.79	5.00E+07	

Tabla 21. Porcentaje de proteína y carga microbiana de las diferentes condiciones de humedad, densidad de carga, porcentaje de inóculo y temperatura

Las horas críticas del crecimiento celular son las 0 h, en donde se comienza el crecimiento celular, las 48 que en la mayoría de las experiencias tiene lugar el periodo de crecimiento exponencial y las 121 y 145 h, en donde se obtienen los valores máximos en la población microbiana y los máximos de porcentaje de proteína. El efecto de la humedad con respecto de la concentración proteica y microbiana es el único efecto que se puede valorar claramente; teniéndose en el porcentaje de humedad más alto (80%), como se observa en la tabla 22, las mayores cargas microbianas y los máximos contenidos proteicos.

%inóculo		60% humedad			80% humedad		
		ρ carga = 18kg/m ²		ρ carga = 36 kg/m ²	ρ carga = 18 kg/m ²		
		T (7-24o C)	T(2-23o C)	T(6-29o C)	T (7-24o C)	T(2-23o C)	
		% prot (b.s.)	% prot (b.s.)	% prot (b.s.)	% prot (b.s.)	% prot (b.s.)	
2.1	Δp		4.48	5.31	6.14	8.98	8.48
	Pmax		5.47	5.84	5.1	8.44	8.06
4.2	Δp		5.23	5.87		9.33	7.4
	Pmax		5.6	6.57		8.58	8.14
8.3	Δp		5.91	3.95		8.89	7.72
	Pmax		6.56	5.8		8.62	8.41
12.5	Δp		5.26	2.46	3.44	9.63	8.68
	Pmax		6.31	4.68	3.27	9.05	8.59

Tabla 22. Porcentajes de proteína máximos y netos de las diferentes condiciones de humedad, densidad de carga, porcentaje de inóculo y temperatura.

7.5 Modelación del crecimiento microbiano

7.5.1 Modelación del crecimiento microbiano en medio líquido

La modelación es de gran utilidad ya que sirve para crear una representación explícita a través de matemáticas, y es esencialmente una descripción de objetos y las relaciones entre ellos. La modelación es indispensable para estudiar una serie de sistemas ya que muchas veces es imposible o resulta económicamente inviable hacer experimentos en sistemas del mundo real. La modelación se realiza con el fin de imitarlo, resolver ecuaciones complejas y experimentar. Son herramientas únicas en el análisis de diferentes escenarios (CEPLAG, 2005)

Se generaron dos nuevas experiencias (NE2) y (NE3) para la preparación del inóculo del crecimiento microbiano en medio líquido que en conjunto con las experiencias anteriores se pueden apreciar, en la figura 24.

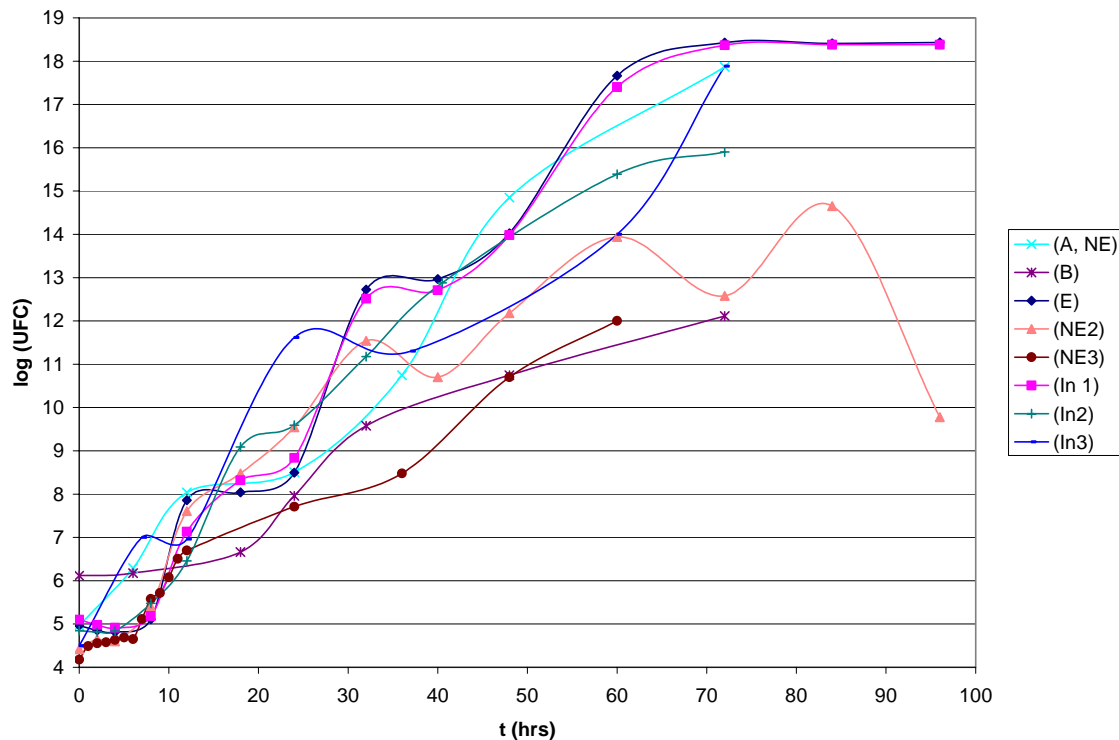


Figura 26. Curvas de crecimiento celular de levadura *Candida utilis* en medio líquido



Como se observa en la figura 26, en general en los sistemas no enriquecidos (A, B, NE2, NE3, ln2 y ln3) la velocidad de crecimiento es más lenta que en los sistemas enriquecidos, sin embargo hay una gran dispersión de datos para los éstos sistemas dándose el caso de que las pruebas (A) y (ln3) con un medio no enriquecido presenta un comportamiento similar a los sistemas enriquecidos (E, ln1). De acuerdo con la gráfica se aprecia en general que la levadura presentó prácticamente una respuesta lineal del log N frente al tiempo.

Se hicieron dos modelaciones para cada una de las experiencias de crecimiento celular de levadura *Candida utilis* en medio líquido:

1. lineal
2. polinomial

Con el fin de hacer una buena predicción del comportamiento exponencial se eliminó la fase lag de experiencia. La modelación del comportamiento mediante regresión lineal y una vez eliminada la fase de adaptación del microorganismo, se presenta en la figura 25 para la experiencia (ln 1). Las figuras de las modelaciones del resto de las experiencias de crecimiento en medio líquido se presentan en el Apéndice A.

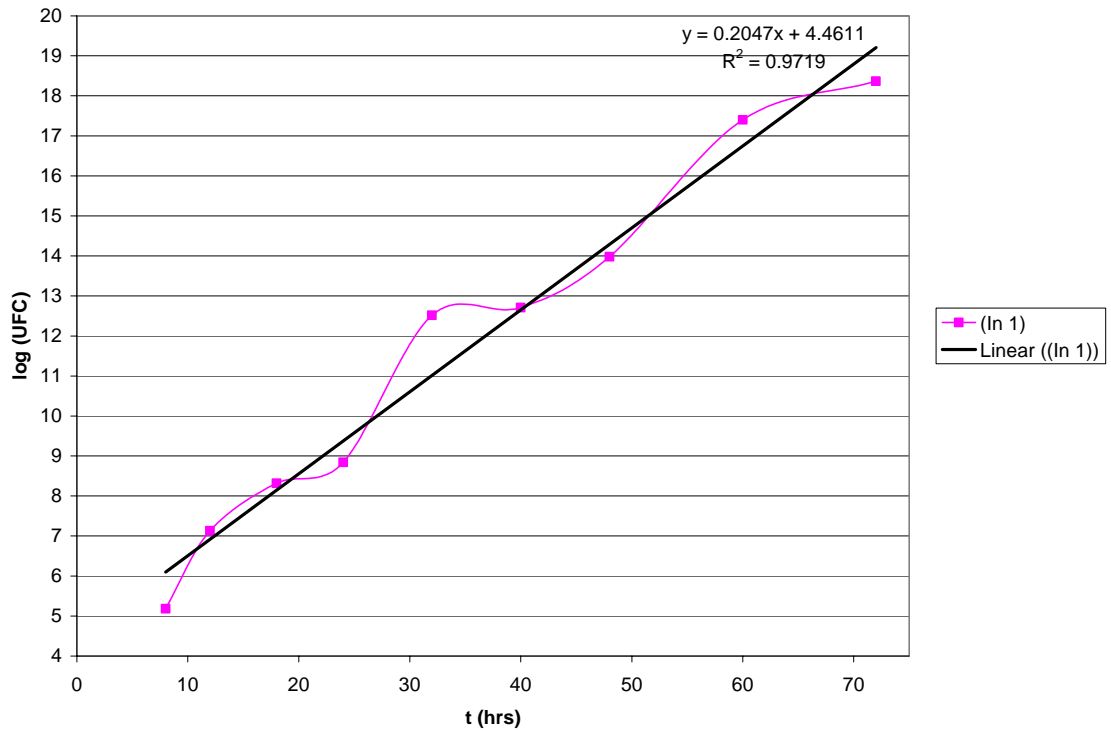


Figura 27. Regresión lineal de la curva de crecimiento microbiano (In 1) en medio líquido

El porcentaje de error de las predicciones del comportamiento del desarrollo microbiano de levadura de las regresiones lineales, para cada una de las experiencias, se presenta en la tabla 21.

Modelos predictivos lineales			
Curva	Ecuación	Ajuste	% error promedio
A, NE	$y = 0.1799x + 5.0934$	$R^2 = 0.9737$	5.88
B	$y = 0.0953x + 5.7167$	$R^2 = 0.9105$	5.74
E	$y = 0.2057x + 4.5231$	$R^2 = 0.9585$	7.98
NE2	$y = 0.1561x + 5.0653$	$R^2 = 0.9186$	9.93
NE3	$y = 0.1228x + 4.623$	$R^2 = 0.9689$	4.93
In1	$y = 0.2047x + 4.4611$	$R^2 = 0.9719$	5.75
In2	$y = 0.1944x + 4.5391$	$R^2 = 0.9679$	6.98
In3	$y = 0.164x + 5.4966$	$R^2 = 0.9357$	9.78
	x	0.952857	7.12

Tabla 23. Modelación lineal de curvas de crecimiento celular en medio líquido.



Se alcanzó un alto coeficiente de correlación (r^2) para cada experiencia; se obtuvo además un bajo porcentaje de error de la modelación lineal que en promedio para todas las experiencias fue de 7.1%.

La segunda modelación se llevó a cabo mediante polinomios de tercer grado. Lo anterior debido a que presentaban un mejor ajuste que los polinomios de segundo grado y realizaban una mejor predicción del comportamiento que los polinomios de mayor grado. La modelación polinomial para la experiencia (In 1) se aprecia en la figura 28. El resto de las modelaciones polinomiales se puede apreciar en el Apéndice B.

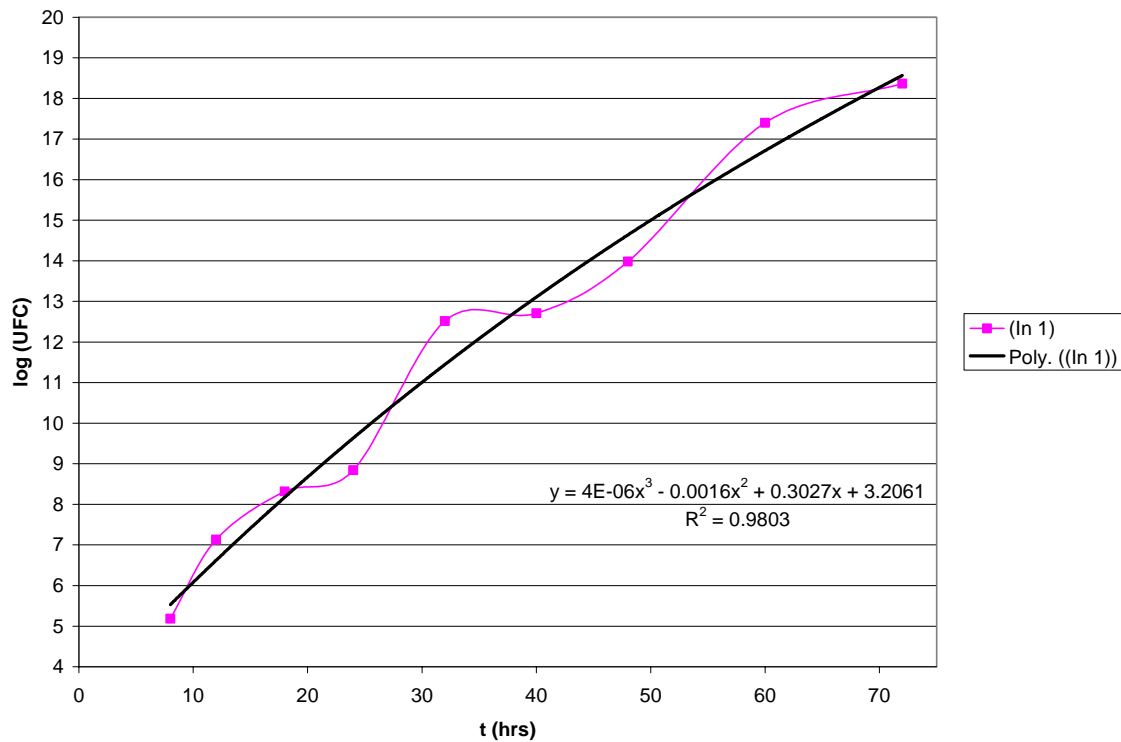


Figura 28. Regresión polinomial de la curva de crecimiento microbiano (In 1) en medio líquido

Los porcentajes de error de las predicciones polinomiales se aprecian en la tabla 22 para cada una de las experiencias.



Modelación polinomial			
Curva	Ecuación	Ajuste	% error
A, NE	$y = -3E-05x^3 + 0.0029x^2 + 0.0985x + 5.4405$	$R^2 = 0.9765$	7.80
B	$y = 6E-05x^3 - 0.0103x^2 + 0.5992x - 1.202$	$R^2 = 0.998$	3.35
E	$y = -1E-05x^3 + 0.0004x^2 + 0.2382x + 3.8309$	$R^2 = 0.9661$	7.61
NE2	$y = 1E-04x^3 - 0.0115x^2 + 0.5244x + 2.4177$	$R^2 = 0.9773$	4.50
NE3	$y = 7E-05x^3 - 0.0073x^2 + 0.3251x + 3.3502$	$R^2 = 0.9791$	4.05
In1	$y = 4E-06x^3 - 0.0016x^2 + 0.3027x + 3.2061$	$R^2 = 0.9803$	5.09
In2	$y = 8E-06x^3 - 0.0025x^2 + 0.3223x + 3.3418$	$R^2 = 0.991$	3.53
In3	$y = 9E-05x^3 - 0.0101x^2 + 0.4515x + 4.1631$	$R^2 = 0.9733$	6.26
	x	0.981186	5.27

Tabla 24. Modelación polinomial de curvas de crecimiento celular en medio líquido.

A pesar de obtenerse un mejor coeficiente de correlación en las regresiones polinomiales ($r^2 \sim 0.98$) el porcentaje promedio de error alcanzó $\sim 5.3\%$. El coeficiente de correlación de las regresiones lineales fue de ~ 0.95 promedio, el porcentaje de error fue de 7.12% , sólo 2% arriba de la mejor modelación.

La modelación que mejor predecirá el comportamiento del crecimiento de levadura *Candida utilis* en éstas condiciones será la polinomial. Sin embargo, el manejo de datos debido a que la modelación se realizó en escala semilogarítmica será más simple con la modelación lineal, cuyo porcentaje de error es pequeño con respecto de la otra modelación.

7.5.2 Modelación del crecimiento microbiano en sustrato

Al igual que para las experiencias de preparación de inóculo en medio líquido, para las diversas experiencias en medio de sustrato cascarilla se realizaron dos modelaciones: una lineal y una polinomial. Sin embargo, para efecto de evitar errores en la modelación, los sistemas que presentaban un cambio claro en la tendencia del crecimiento microbiano, fueron seccionados en periodos A y B; periodos para las fases de crecimiento exponencial y crecimiento estacionario, respectivamente, como se observa en la figura 29. Dichos periodos de crecimiento fueron determinados de acuerdo a la mejor modelación del comportamiento y al menor % de error.

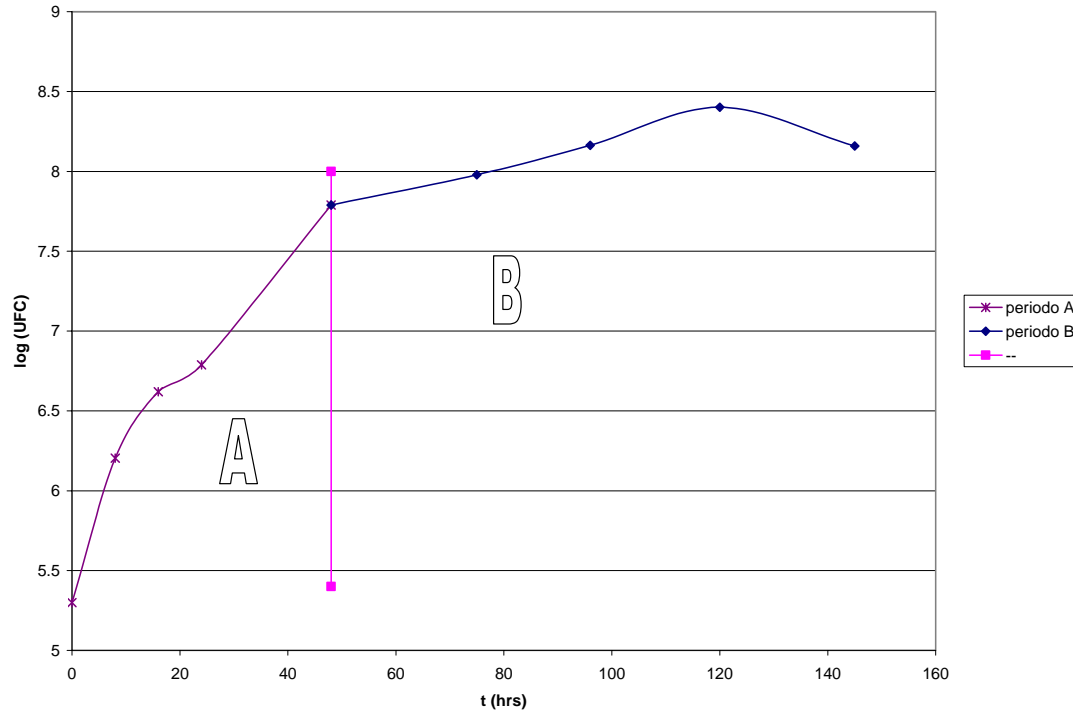


Figura 29. Segmentos del comportamiento de crecimiento celular: exponencial (A) y estacionario (B)

La modelación lineal para cada uno de los periodos de crecimiento microbiano (A) y (B) para la experiencia realizada con humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m², temperatura promedio de 13.6° C y porcentaje de inóculo de 2.1% (a) se presentan en la figura 30. Las modelaciones lineales para cada uno de los sistemas de crecimiento microbiano en medio sustrato se presentan en el apéndice C.

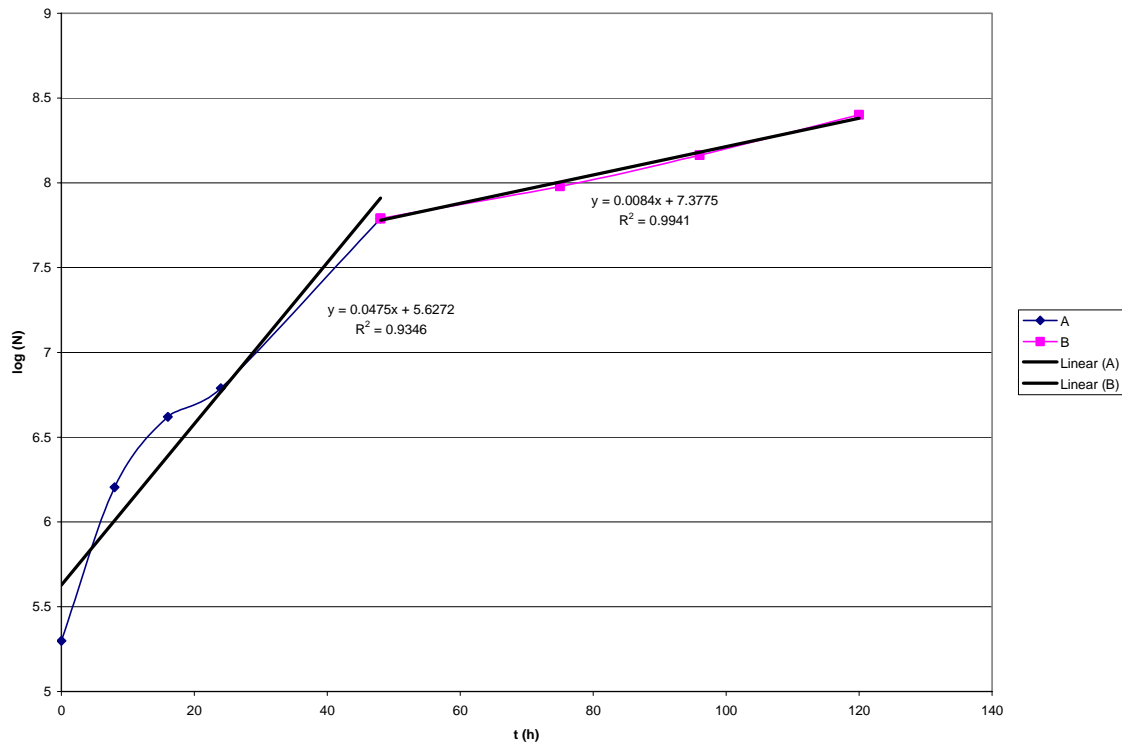


Figura 30. Modelación lineal para cada uno de los periodos de crecimiento microbiano (A) y (B)

Los errores presentados por cada una de las modelaciones tuvieron un bajo porcentaje, como se aprecia en la tabla 23. A pesar de un bajo coeficiente de correlación para el periodo B de esta experiencia, el porcentaje de error fue de ~1.3% y el promedio del porcentaje de error de la modelación para todo el sistema fue de 2.1%.

Modelación lineal			
Periodo	Ecuación	Ajuste	% error
A (0- 48 h)	$y = 0.0475x + 5.6272$	$R^2 = 0.9346$	2.94
B (48-121 h)	$y = 0.0084x + 7.3775$	$R^2 = 0.9941$	1.27

Tabla 25. Modelación lineal de curvas de crecimiento celular en sustrato de ambos periodos

En la figura 31 se presenta la modelación polinomial para ambos periodos de crecimiento microbiano de la misma experiencia (A) y (B). Las modelaciones polinomiales para cada uno de los sistemas de crecimiento microbiano en medio sustrato se presentan en el apéndice D.

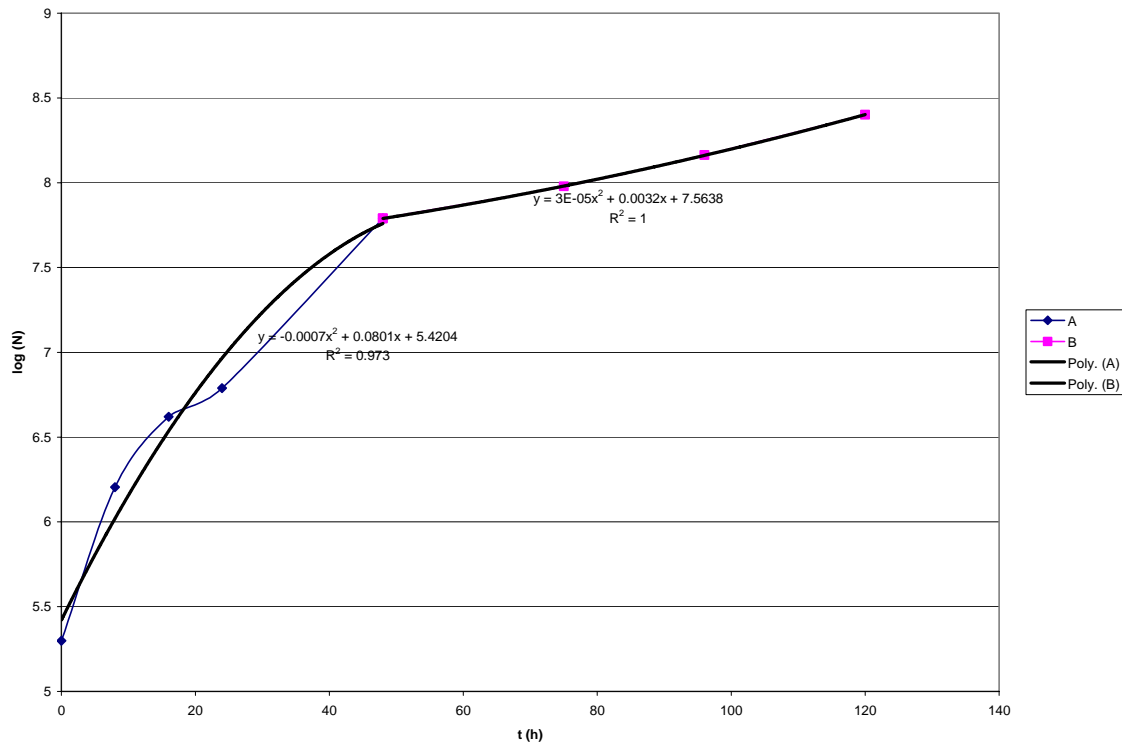


Figura 31. Modelación polinomial para cada uno de los periodos de crecimiento microbiano (A) y (B)

La modelación polinomial presentó un alto coeficiente de correlación y un bajo porcentaje de error. El promedio del porcentaje de error de los periodos del sistema alcanzan ~1.1%. Los polinomios que mejor describen el comportamiento de este sistema de crecimiento microbiano son los de segundo grado para el periodo exponencial y para el periodo estacionario, como se observa en la tabla 24.

Modelación polinomial			
Periodo	Ecuación	Ajuste	% error
A (0-48 h)	$y = -0.0007x^2 + 0.0801x + 5.4204$	$R^2 = 0.973$	2.15
B (48-121 h)	$y = 3E-05x^2 + 0.0032x + 7.5628$	$R^2 = 1$	0.15

Tabla 26. Modelación polinomial de curvas de crecimiento celular en sustrato para ambos periodos



También se presentaron sistemas de crecimiento celular en los que el desarrollo de la levadura no cesó a lo largo de la experimentación. Por tal motivo sólo se modeló un periodo de crecimiento.

La modelación lineal para el periodo de crecimiento microbiano desarrollado en la experiencia realizada con humedad = 61%, densidad de carga = 18 kg/m², temperatura promedio de 16.5° C y porcentaje de inóculo de 2.1% (II) se presenta en la figura 32.

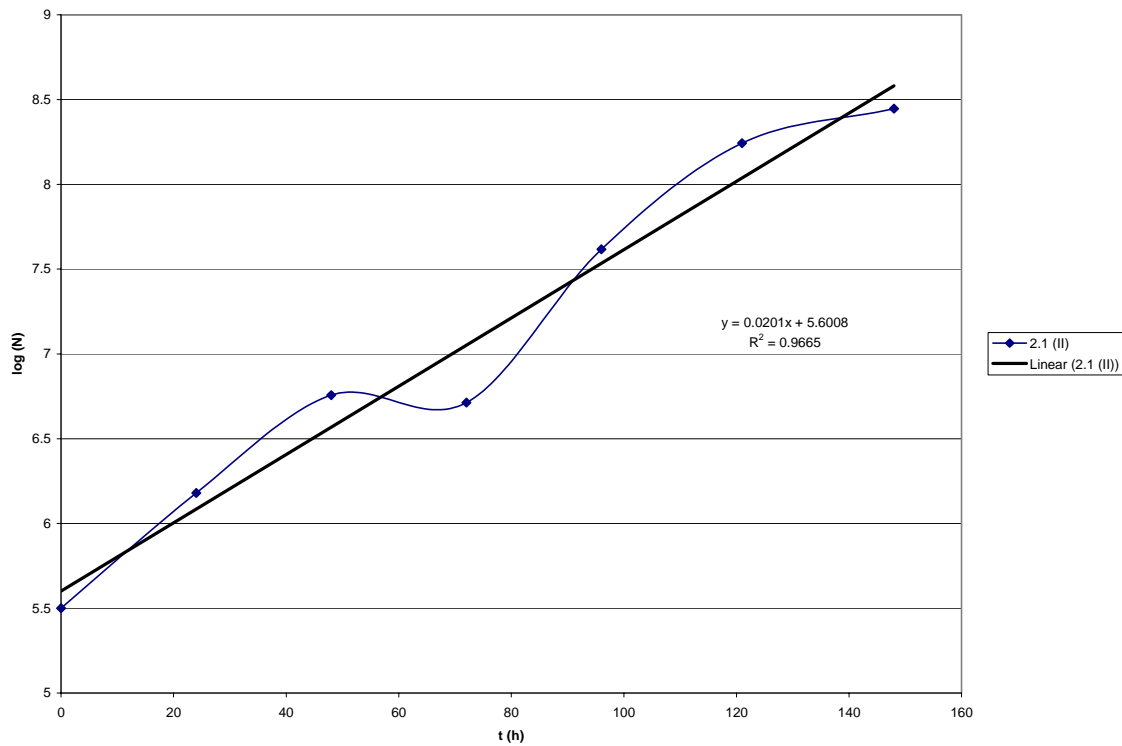


Figura 32. Regresión lineal de la curva de crecimiento microbiano en sustrato

La modelación polinomial para la misma experiencia se presenta en la figura 32.

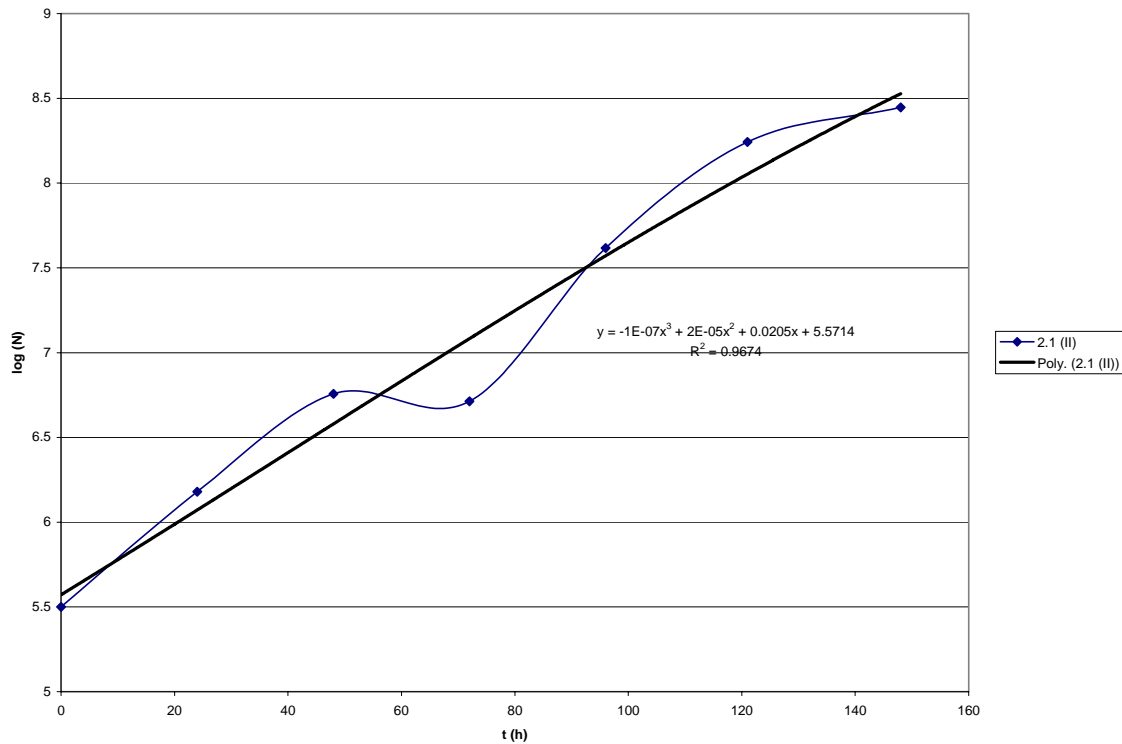


Figura 32. Regresión polinomial de la curva de crecimiento microbiano (II) en sustrato

La modelación lineal presentó mayor porcentaje de error y menor coeficiente de correlación con respecto de la modelación polinomial. Para este último caso la mejor descripción del comportamiento microbiano la realizó la ecuación de tercer grado. Sin embargo, la diferencia entre las modelaciones no es importante puesto que los porcentajes de error en cada caso son muy similares.

Periodo único (0-148 hrs)			
% inóculo	Ecuación	Ajuste	% error promedio
Modelación lineal	$y = 0.0201x + 5.6008$	$R^2 = 0.9665$	2.35
Modelación polinomial	$y = -1E-07x^3 + 2E-05x^2 + 0.0205x + 5.5714$	$R^2 = 0.9674$	2.26

Tabla 27. Modelación lineal y polinomial de curvas de crecimiento celular en sustrato.

Las mejores descripciones del comportamiento microbiano en sustrato fueron realizadas por las ecuaciones polinomiales. Al igual que el crecimiento microbiano en medio líquido, presentan un mejor ajuste y menores porcentajes de error.

7.5.3 Modelación del contenido proteico en sustrato

7.5.3.1 Función del tiempo

La modelación del porcentaje de proteína en base seca como función del tiempo, debido a la dispersión de los datos, se hizo, correspondiendo con la ecuación que presentara un buen coeficiente de correlación y que describiera de mejor manera el comportamiento de la concentración de proteína.

En la figura 33 se presentan los resultados de la regresión obtenidos para el inóculo de 2.1% de la experiencia (I) cuyas condiciones fueron las siguientes:

- Densidad de carga de 18 kg/m²
- humedad inicial de 61%
- Temperatura promedio de 13.6°C

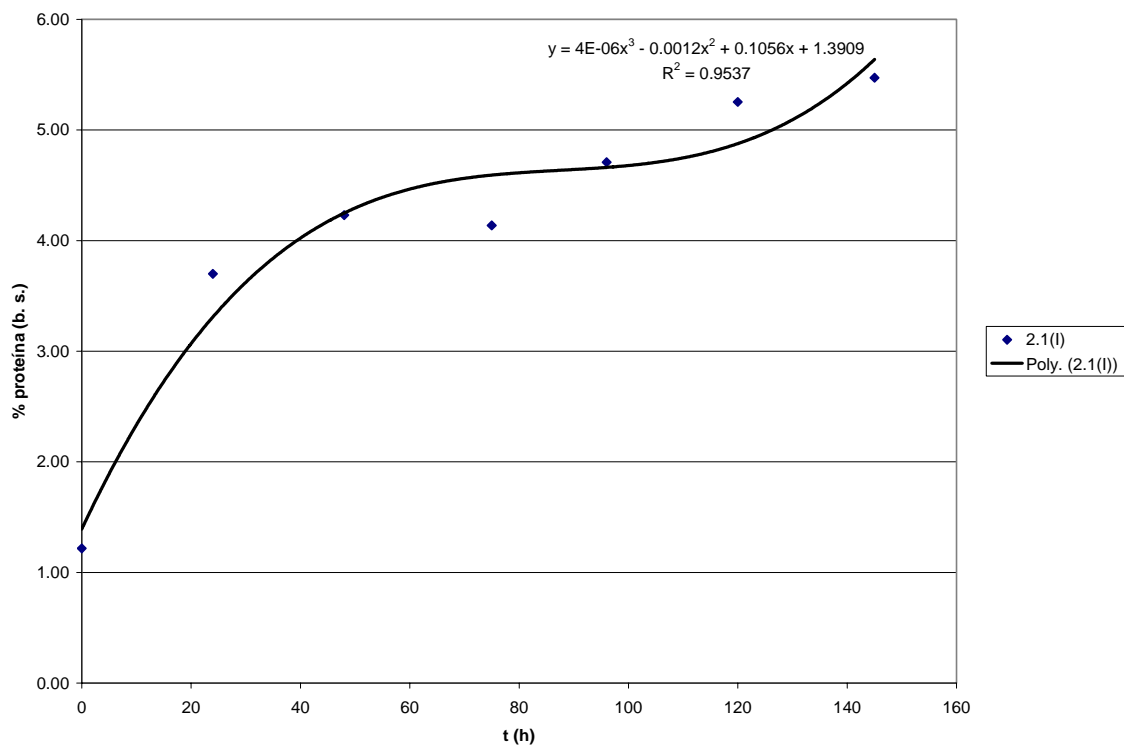


Figura 33. Regresión polinomial de las curvas de porcentaje de proteína en sustrato



La ecuación de tercer grado correspondió a la de mejor descripción del proceso de enriquecimiento proteico. Como se observa en la tabla 26, el coeficiente de correlación es alto, mientras que el error tiene un bajo porcentaje. Las modelaciones para cada experiencia se presentan en el apéndice E.

% inóculo	Ecuación	Ajuste	% error
2.1	$y = 4E-06x^3 - 0.0012x^2 + 0.1056x + 1.3909$	$R^2 = 0.9537$	15.39

Tabla 28. Modelación polinomial de la curva de porcentaje de proteína en sustrato.

7.5.3.1 Función del crecimiento celular

En la figura 34 se pueden apreciar los resultados de las modelaciones del comportamiento del porcentaje de proteína (b. s.) con respecto de la concentración microbiana para la experiencia (b), cuyas condiciones fueron de humedad = 80%, densidad de carga = 18 kg/m² y temperaturas promedio de 16.5° C. Las curvas dependen del porcentaje de inóculo. Así se obtuvo que la mejor modelación la realizaron las ecuaciones logarítmicas para todos los porcentajes de inóculo.

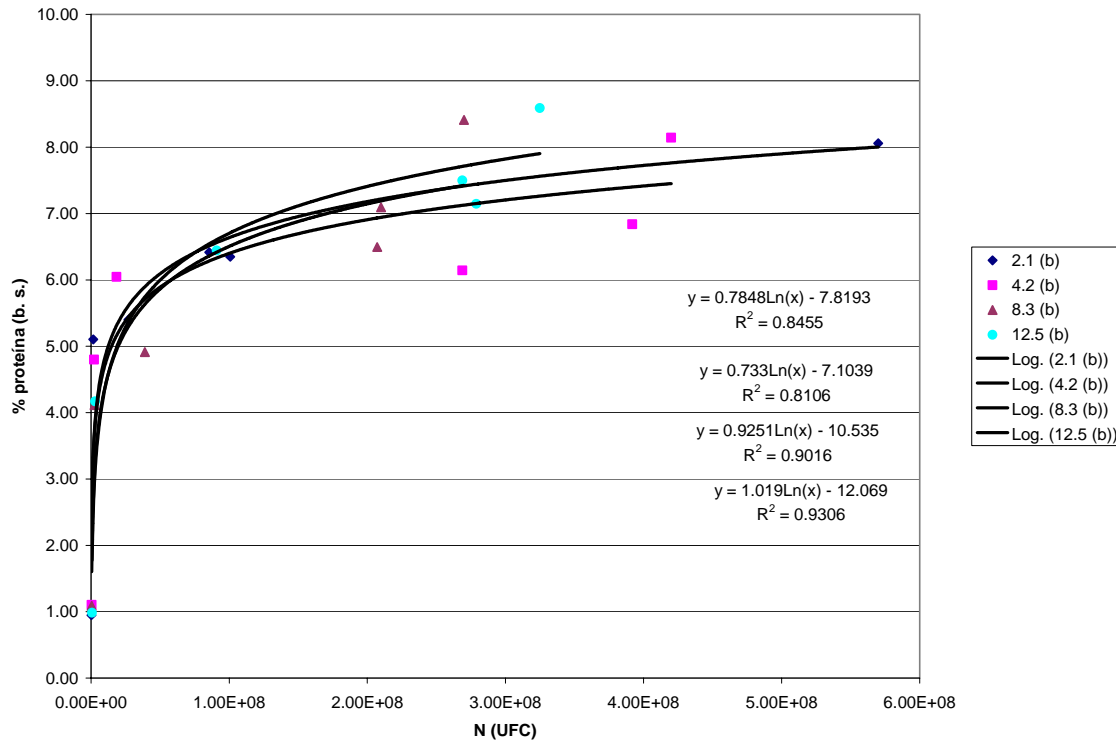


Figura 34. Regresiones polinomiales de las curvas de porcentaje de proteína en función de crecimiento microbiano en sustrato



Los coeficientes de correlación, así como los porcentajes de error de cada modelación se pueden apreciar en la tabla 27. Las modelaciones para cada experiencia se presentan en el apéndice F.

% inóculo	Ecuación	Ajuste	% error
2.1	$y = 0.7848\text{Ln}(x) - 7.8193$	$R^2 = 0.8455$	27.92
4.2	$y = 0.733\text{Ln}(x) - 7.1039$	$R^2 = 0.8106$	30.86
8.3	$y = 0.9251\text{Ln}(x) - 10.535$	$R^2 = 0.9016$	18.48
12.5	$y = 1.019\text{Ln}(x) - 12.069$	$R^2 = 0.9306$	21.25
			24.63

Tabla 29. Modelación lineal de las curvas de porcentaje de proteína como función del crecimiento celular en sustrato.

Los modelos que hicieron una mejor representación de la curva experimental fueron los logarítmicos.