

BIOSÍNTESIS DE VITAMINA B2 A PARTIR DEL AGUA DE COCIMIENTO DEL MAÍZ UTILIZANDO COMO MICROORGANISMO FERMENTADOR *Saccharomyces cerevisiae*

Muñoz Gutiérrez D., Hernández Vázquez R.M., Toscano Meléndrez R.J. *
Universidad de Sonora. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Ciencias Químico y Biológicas. Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, CP 83000 Hermosillo, Sonora, México. * mavet.herrera.guayacan.uson.mx

RESUMEN

La nixtamalización, que consiste en la cocción del maíz en agua y cal; los productos obtenidos son el nixtamal (grano transformado en tortillas) y el nejayote (agua residual). El objetivo del presente trabajo fue obtener vitamina B2 (riboflavina) a partir de un proceso biotecnológico microbiano por la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando el nejayote como medio de cultivo. Para enriquecer dicha agua residual, se le adicionó peptona, sacarosa, glicina, aceite de canola y D-glucosa. Durante el proceso, se utilizó una bomba de aeración automática y se ajustó el pH a un rango de 4.5 a 5.5. El fermento fue monitoreado diariamente durante 6 días, evaluándose: pH, biomasa, grados Brix y vitamina B2. Se encontró que el proceso de biosíntesis alcanza su máxima producción de vitamina B2 y de biomasa a las 48 horas, obteniéndose valores de 13.313 mg/L de riboflavina y 0.1074 g/L de biomasa. Los grados Brix disminuyeron en 1% al final del proceso. Esto indica una relación directa entre la producción de vitamina B2, el crecimiento del microorganismo y el consumo de carbohidratos. Es posible biosintetizar vitamina B2 por acción microbiana utilizando un producto de desecho del proceso de nixtamalización: el nejayote.

ABSTRACT

The nixtamalization, consist of cooking corn in water and quicklime; products obtained are nixtamal (grain transformed into tortillas) and nejayote (residual water). The objective of this study was to obtain vitamin B2 (riboflavin) from a microbial biotechnological process by the action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, using the nejayote as culture medium. To enrich said residual water was added peptone, sucrose, glycine, canola oil and D- glucose. During processing, a automatic aeration pump was used and the pH was adjusted to a range of 4.5 to 5.5. The ferment was monitored daily for 6 days, evaluating pH, biomass, Brix and vitamin B2. It was found that the biosynthesis process reaches its maximum production of vitamin B2 and biomass to 48 hours, yielding values of 13 313 mg / L of riboflavin, and 0.1074 g / L biomass. Brix decreased by 1% at the end of the process. This indicates a direct link between the production of vitamin B2, microorganism growth and carbohydrate intake. It is possible to biosynthesize vitamin B2 by microbial action using a waste product of the process nixtamalization: the nejayote.

Palabras clave: Biotecnología, riboflavina, nixtamalización

Área: Microbiología y biotecnología.

INTRODUCCIÓN

Los procesos de nixtamalización que se emplean en el México para la producción de masa de nixtamal son muy variados. Los productos derivados del mismo son el nixtamal, que es el grano que será transformado en tortillas y el nejayote o agua residual también conocido como "caldo de cal". El nejayote es altamente contaminante debido a que contiene entre algunos inconvenientes, como altas concentraciones de materia orgánica en suspensión y disuelta (5 a 50 g/l) lo que ocasiona una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Sin embargo, el nejayote en muchas ocasiones se desecha en drenajes, cenotes (cuando éstos existen), o arrojándose directamente a las inmediaciones del molino. Existen varias tecnologías para reducir la cantidad de nejayote producido durante la nixtamalización (Domínguez y col., 2002).

Hasta ahora no se había contemplado la posibilidad de obtener químicos de interés comercial a partir del nejayote a través de su fermentación con microorganismos específicos (cepas puras). Esta alternativa brinda una perspectiva deseable al tratamiento de los efluentes, permitiendo la posibilidad de obtener ganancias adicionales (lo cual no se obtiene en cantidades suficientes en los otros usos alternos del nejayote) que pueden hacer que el sistema de tratamiento sea rentable desde el punto de vista económico (Domínguez y col., 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Composición del medio de fermentación

Peptona comercial (10 g/L), aceite de cártamo (5 g/L), D-glucosa (5 g/L), sacarosa (5 g/L), glicina (0.4 g/L), agua del cocimiento del maíz (1 L).

Condiciones del medio de fermentación.

El medio de fermentación se mantuvo a temperatura ambiente (25°C) y se ajusto aun pH de 4.95

Procedimiento para preparar el medio de fermentación

Para preparar el medio de fermentación se recolecto el agua de la cocción del maíz y se refrigeró a 5°C aprox. Por 24 horas, después se separo el liquido de la cal sedimentada, posterior a este paso se agregaron los nutrientes para la levadura (aceite de cártamo, peptona, glicina, sacarosa, y D-glucosa), se disolvieron los sólidos y se regulo a 4.95 el pH ideal para la activación de la levadura, finalmente el medio de cultivo se esterilizó en autoclave.

Procedimiento para adaptar la levadura al medio de fermentación (prefermentación)

Para adaptar la levadura al medio se transfirieron 10g de levadura y, se inoculó en el medio de fermentación y se incubó durante 24 horas en agitación constante y se protegió de la luz debido a que la vitamina B2 es fotosensible.

Biorreactor

Se usó como biorreactor un matraz erlenmeyer de 1000 mL, este se lavó con agua, detergente, y se desinfectó con alcohol isopropílico.

El biorreactor con el medio de fermentación inoculado con el microorganismo ***Saccharomyces cerevisiae*** se cubrió con papel aluminio para protegerlo de la luz, creando las condiciones de aerobiosis (utilizando una bomba de aireación) y agitación constante.

Producción y determinación de riboflavina

Se prepararon en un matraz erlenmeyer 900 ml del medio cultivo estéril y esto se inoculó con 100 ml de inóculo prefermentado se homogeniza, posteriormente se incubó con condiciones de agitación y aireación a temperatura ambiente (25°C) durante 6 días, retirando una muestra cada 24 hrs.

Determinaciones posteriores

La riboflavina (vitamina B2) se cuantificó utilizando un método espectrofotométrico, la biomasa se determinó por el método del peso seco, se determinó pH y grados Brix.

Método Espectrofotométrico Para Cuantificar Riboflavina (Vitamina B2).

Preparación de Muestra.

- Tomar 5 ml de filtrado de muestra obtenido del caldo de fermentación
- Leer a 445 nm.

Procedimiento:

1. Encender espectrofotómetro 15 minutos antes de ser utilizado.
2. Ajustar condiciones de trabajo, y longitud de onda $\lambda = 445$ nm.
3. Colocar el blanco en la celda (agua destilada) y llevar a cien de transmitancia y cero de absorbancia.
4. Colocar 5 ml de estándar de riboflavina en otra celda y proceder a leer absorbancia.
5. A la solución estándar anterior de riboflavina agregar 0.02 g de Hidrosulfito de sodio, para reducir la vitamina dando la forma leucoriboflavina que es incolora y no fluorescente.
6. Colocar en la celda y leer Absorbancia
7. Realizar lecturas repetitivas para confirmar que la absorbancia es la misma.
8. Realizar tres lecturas.
9. Obtener promedio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla I. Resultados de todas las determinaciones.

| Tiempo (horas) | Biomasa (gramos) | Grados Brix | pH | Vitamina B2 (mg/L) |
|----------------|------------------|-------------|------|--------------------|
| 0 | 0.0833 | 5.1 | 5.66 | 0.6889 |
| 24 | 0.0856 | 4.6 | 5.17 | 3.7345 |
| 48 | 0.1074 | 4.5 | 5.73 | 13.3130 |
| 72 | 0.1020 | 4.3 | 6.96 | 10.5094 |
| 96 | 0.0725 | 3.0 | 7.58 | 6.0490 |
| 120 | 0.0508 | 4.0 | 7.88 | 4.2028 |

Como se observa en la Tabla 2 la biomasa presentó un aumento en proporción al tiempo y al sustrato utilizado, al momento de comparar el desarrollo de la levadura en los 6 días el mayor incremento presentó las 48 horas se vio reflejado en la curva de crecimiento bacteriano donde el crecimiento exponencial de los microorganismos se da con respecto al tiempo, por lo consiguiente los grados brix disminuyen paulatinamente y es hasta las 120 horas donde se muestra un ligero incremento, debido a que el crecimiento de la biomasa eleva la concentración de solutos.

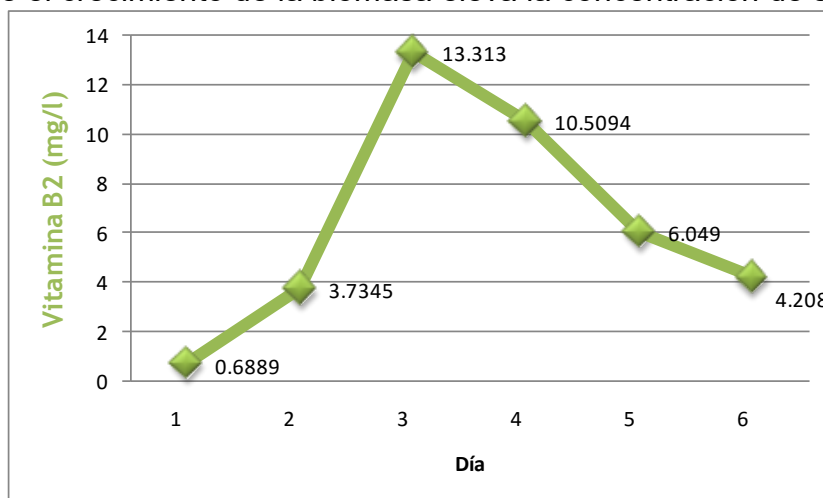


Figura 1. Resultados en la producción de vitamina B2 por día

En la Figura 1. Se muestra que a las 48 horas se alcanzó la producción máxima de vitamina B2 (13.313 mg / L) aun así la producción de vitamina B2 siguió observándose pero con menos intensidad. El rendimiento de vitamina B2 producido por *Saccaromyces cerevisiae* comercial es muy bajo comparado con el rendimiento de otras cepas de levaduras, *Ashbya gossypii* NRRLY-1056 puede producir más de 10-15 g/L de vitamina B2 (Mateos 2010).

CONCLUSIONES

En la presente investigación se encontró que es posible la biosíntesis de vitamina B2 a partir del residuo de la nixtamalización (nejayote) utilizando como microorganismo fermentador *Saccharomyces cerevisiae*.

Sin embargo a nivel industrial no es viable utilizar *Saccharomyces cerevisiae* como productor de vitamina B2, debido a que hay otra cepa que tiene mayor producción.

BIBLIOGRAFÍA

- Bullock, J.D. y Kristiansen, B. 1991. Biotecnología Básica. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Bustillo Mejía, Romero Campos 2008. Obtención de riboflavina (vitamina b2), por proceso de fermentación sumergida en medio de producción de agua de cocimiento de maíz y aceite de soya utilizando como microorganismo productor *saccharomyces cerevisiae*. San salvador, el salvador, centro américa.
- Brown C.M., Campbell, I. y Priest, G.G. 1989. Introducción a la biotecnología. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Dominguez R. 2002. Efluentes de la industrialización del maíz: ¿contaminante o recurso valioso?
- Lara, Sánchez y Amaro, 2001. Producción de Riboflavina (Vitamina B2) por *Ashbya gossypii* ATCC10895.
- Leveau, J.Y. y Bouix, M. 2000. Microbiología Industrial. Los microorganismos de interés industrial. Editorial Acribia, S.A.
- Mateos P. 2010. Producción industrial de vitaminas. Universidad de Salamanca. España.