Bionatura Journal
Ibero-American Journal of Biotechnology and Life Sciences

Article

Incremento proteico del raquis de la Palma Africana (*Elaeis guineensis*) utilizando *Aspergillus niger*

Protein enhancement of rachis of African Palm (Elaeis guineensis) using Aspergillus niger

Lisbeth Cristina Dumas [1], *Danae Fernández* [2]*

[1] *Universidad Técnica de Ambato/Ambato/Ecuador; cristidumas_@hotmail.com.*
[2] *Universidad Técnica de Ambato/Ambato/Ecuador.*
* *Correspondencia: da.fernandez@uta.edu.ec*

Check for updates

RESUMEN

El raquis de la palma africana (*Elaeis guineensis*) es considerado uno de los subproductos obtenidos en las plantas extractoras de aceite, el mismo provoca contaminación ambiental, sin embargo, con los avances biotecnológicos se puede aprovechar este residuo, al utilizarlo como sustrato para el crecimiento de microorganismos y a su vez aumentar la concentración de proteínas en el mismo. Fueron formulados cuatro medios a partir del raquis previamente secado y triturado e inoculado *Aspergillus niger* a una concentración de 5000 y 50000 conidios/g de medio por un tiempo de 8 y 12 días. Mediante un diseño factorial 2^2, se determinó que la concentración del inóculo y el tiempo de fermentación influyeron significativamente sobre el enriquecimiento proteico del raquis, resultando que en el cultivo donde se inoculó una concentración de 50000 conidios/g con una duración de 8 días se alcanzaron valores de 15,5 mg/ml de proteínas.

Palabras claves: hongo filamentoso, fermentación microbiana, fermentación en estado sólido

ABSTRACT

The rachis of the African palm (Elaeis guineensis) is considered one of the by-products obtained in oil extraction plants; it causes environmental pollution; however, with biotechnological advances, this residue can be used by using it as a substrate for the growth of microorganisms and in turn increase the concentration of proteins in it. Four media were formulated from the rachis previously dried and crushed and inoculated *Aspergillus niger* at a concentration of 5000 and 50000 conidia/g medium for a time of 8 and 12 days. Through a factorial design 2^2, it was determined that the concentration of inoculum and fermentation time significantly influenced the protein enrichment of the rachis, resulting in the culture where a concentration of 50000 conidia /g was inoculated with a duration of 8 days values of 15.5 mg/ml of proteins were reached.

Keywords: filamentous fungi, microbial fermentation, solid-state fermentation

INTRODUCIÓN

La palma africana (*Elaeis guineensis*) es una oleaginosa originaria de las costas occidentales de África, de donde se puede extraer aceite. En los últimos años ha tenido un aumento en su producción a nivel mundial, superando al aceite de soja, ya que se emplea para producir biodiesel. Además, el aceite extraído de la palma

https://bionaturajournal.com/

es utilizado para elaborar cosméticos, alimentos, cremas y jabones, lo que significa que su demanda va incrementando, siendo el 27,58% de la producción de aceites vegetales y el 51% de las exportaciones de aceites y grasas, representando un incremento del 8% desde 1996 hasta el 2017[1].

E. guineensis es un cultivo tropical considerado uno de los principales sembríos agroindustriales en el Ecuador, con gran importancia económica, dado el aumento de la demanda de aceite de palma. Según el INEC en el año 2020 la superficie plantada fue de 256854 hectáreas, mientras que la superficie cosechada fue de 188469 hectáreas, la producción en ese año fue de 2446312 toneladas y las ventas de 1983890 toneladas[2].

La extracción de aceite de *E. guineensis* conlleva varios procesos que son: recepción de los racimos de fruta fresca, esterilización de los racimos, desfrutación, digestión, prensado y clarificación, donde se purifica el aceite separando los materiales sólidos existentes y el agua. De este procedimiento se obtienen desechos agroindustriales como el raquis, específicamente en la etapa de desfrutación, ya que genera el racimo vacío[3].

El raquis es un residuo lignocelulósico, que puede ser aprovechado por los microorganismos como los hongos, porque poseen la capacidad de degradar la celulosa y la lignina mediante enzimas que son secretadas al medio, por lo que puede emplearse en los procesos productivos, contribuyendo al mejoramiento ambiental[4].

Los microorganismos que se utilizan para generar sustratos enriquecidos con proteínas deben poseer las siguientes características: bajos requerimientos nutricionales, crecimiento rápido y un sistema de fácil procesamiento. Estos requisitos los cumplen ciertos hongos como *Aspergillus niger* y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, aunque el microorganismo a utilizar depende del sustrato y del proceso al que se someterá[5].

Se ha evidenciado el éxito del enriquecimiento proteico a través de la fermentación en estado sólido utilizando *A. niger* en diferentes sustratos, por ejemplo con desechos agroindustriales de camote y sandía, se ha alcanzado medios ricos en proteínas con valores mayores al 70% en 14 días de fermentación en estado sólido[6].

En este trabajo se evaluó la concentración del inóculo a utilizar de *Aspergillus niger*, así como el tiempo de fermentación con el objetivo de aumentar la concentración de proteínas en el raquis de *Elaeis guineensis*.

MATERIALESS Y METODOS

Obtención del sustrato

Se recolectó el raquis prensado de *E. guineensis* de la extractora de aceite "San Daniel", el cual fue transportado dentro de saquillos, hacia los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

El raquis fue sometido a un proceso de secado empleando un secador de bandejas a la temperatura de 72 °C por 24 horas y se trituró utilizando un molino manual[7].

Proceso fermentativo

Se inocularon 5000 y 50000 conidios/g de medio de *A. niger* en el sustrato obtenido a partir del raquis seco y molido. Se incubó utilizando un agitador orbital a la temperatura de 30 °C con una velocidad de agitación de 130 rpm durante 8 y 12 días. La concentración de proteínas se determinó por el método de Biuret, a partir de la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm, utilizando una curva patrón de albúmina de suero bovino.

La concentración de biomasa fue estimada por el método gravimétrico de peso seco, se determinó la masa del tubo de centrífuga vacío, seguidamente se colocó 5 mL de la muestra del fermentado y se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos. El pellet obtenido se lavó con agua destilada y colocó en la estufa a 60 °C durante 24 horas. Se calculó la concentración celular a partir de la relación entre la masa de la muestra seca y el volumen del cultivo utilizado[8].

Para el análisis estadístico se empleó el software Statgraphics Centurion versión XVIII, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un diseño experimental 2^2, para determinar la influencia de la concentración del inóculo (5000 y 50000 conidios/g de medio) y el tiempo de fermentación (8 y 12 días) sobre el incremento proteico y la concentración de biomasa del *Aspergillus niger* en el raquis de la palma africana.

RESULTADOS

Determinación de la concentración de proteínas

En el análisis de varianza (ANOVA) para la concentración de proteínas se puede observar que los factores: concentración del inóculo (A) y tiempo de fermentación (B) presentaron un Valor-P menor a 0,05 para un nivel de confianza del 95% (Anexo 1), estos resultados demuestran que ambos factores influyeron significativamente sobre la concentración de proteínas[9].

Para la concentración de proteínas en el Diagrama de Pareto (Figura 1) se puede evidenciar que la concentración del inóculo incide positivamente sobre esta variable, sin existir influencia significativa entre la interacción de ambos factores.

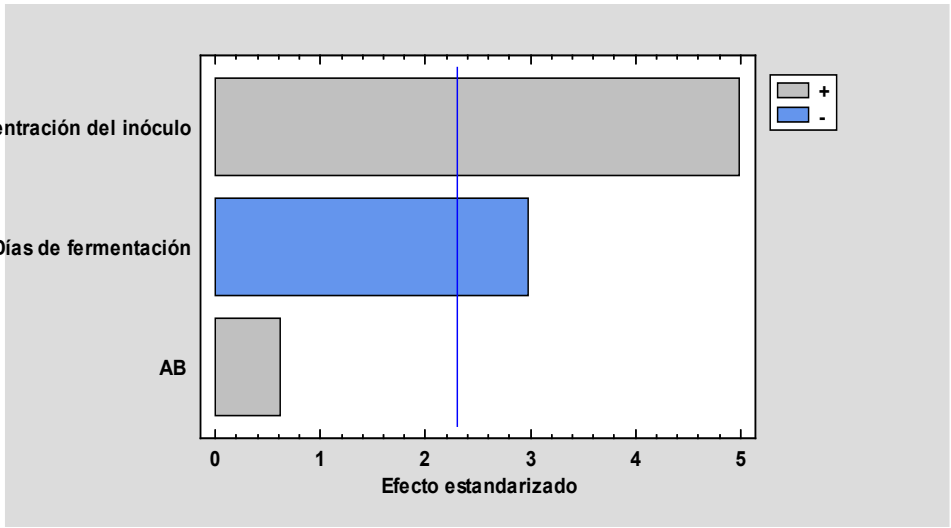

Figura 1. Diagrama de Pareto Estandarizado para Concentración de proteínas

Con respecto al Gráfico de Efectos Principales (Figura 2) se puede indicar que en el cultivo donde se inoculó una mayor concentración del inóculo (50000 conidios/g), la concentración de proteínas fue mayor, mientras que al aumentar el tiempo del cultivo la concentración de proteínas disminuye. La síntesis de proteínas está relacionada a la división celular y esta se produce mayormente durante el crecimiento exponencial[10].

Durante la fermentación sumergida existe degradación proteolítica causada por la acción de proteasas intracelulares y extracelulares producidas durante el crecimiento fúngico, si estas no se eliminan, las proteínas son degradadas, disminuyendo su concentración a medida que transcurre el proceso fermentativo[11].

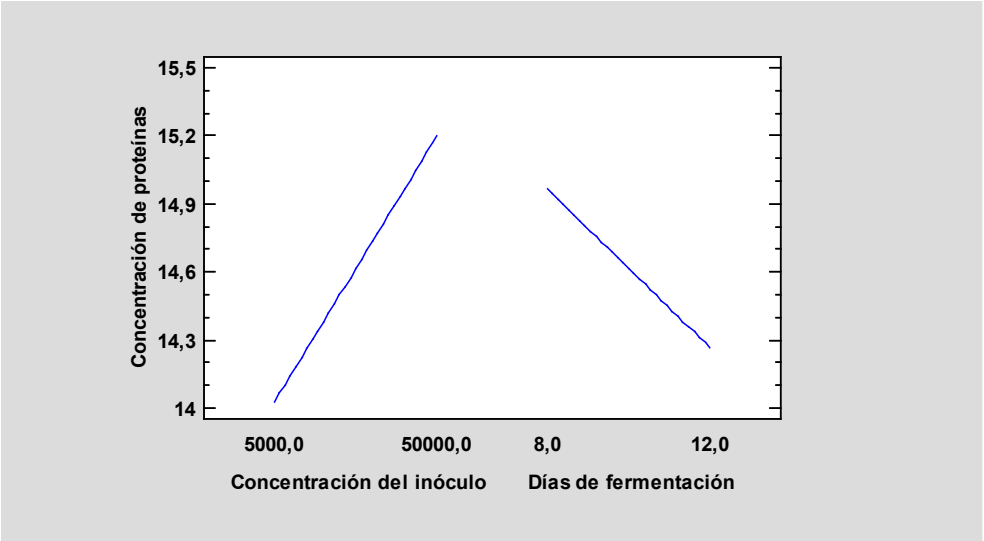

Figura 2. Efectos principales para la concentración de proteínas

Determinación de la concentración de biomasa

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza (ANOVA) para la concentración de biomasa demuestran que los factores: concentración del inóculo y tiempo de fermentación influyen significativamente sobre la concentración de biomasa (Valor-P obtenido menor a 0,05) (Anexo 2).

En el Diagrama de Pareto (Figura 3) se puede observar que el factor de concentración del inóculo incide positivamente sobre la concentración de biomasa además, ambos factores superan la línea de valor crítico en la distribución *t* de Student, considerandose que poseen una influencia significativa sobre la concentración de biomasa, confirmando los resultados del análisis de varianza.

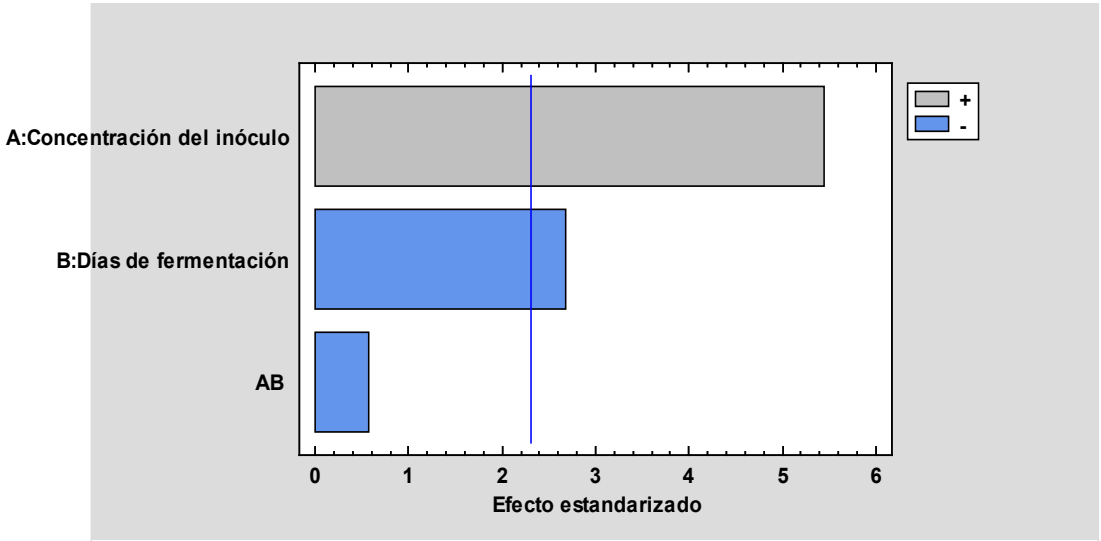

Figura 3. Diagrama de Pareto Estandarizado para Concentración de biomasa

Efectos Principales (Figura 4) muestra que existe disminución en la concentración de biomasa cuando aumenta el tiempo de fermentación. Al ser una fermentación sumergida tipo batch los nutrientes son adicionados al

inicio del cultivo, después del crecimiento celular, se comienzan a agotar los nutrientes, a acumular sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento celular, por lo que el número de células disminuye ya que solo va a persistir un número muy pequeño de estas[11].

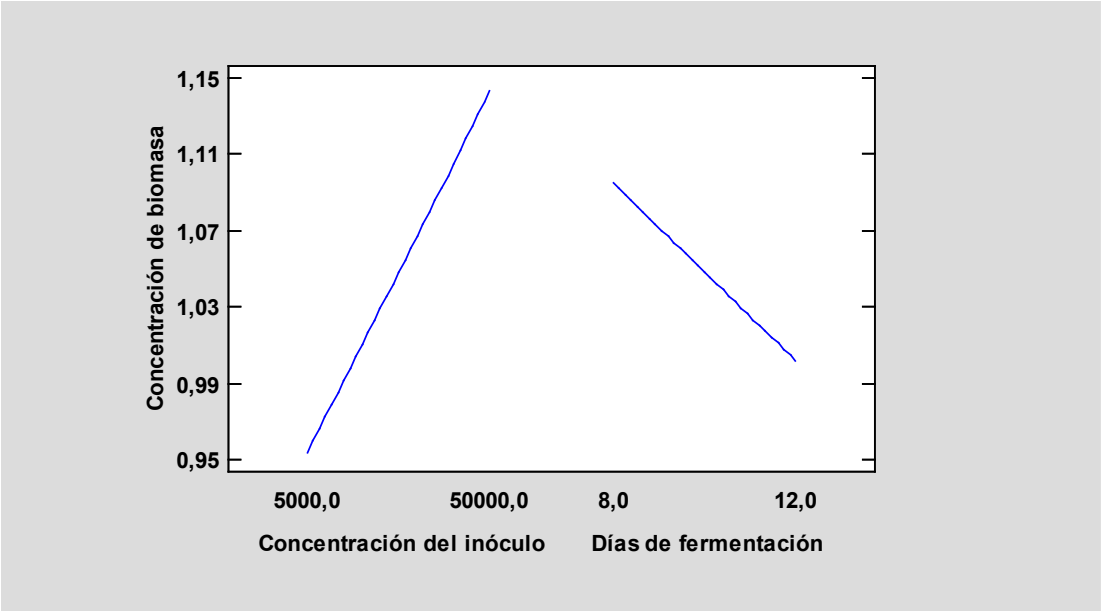

Figura 4. Efectos principales para la concentración de biomasa

La Superficie de Respuesta Estimada (Figura 5) muestra que con una concentración del inóculo de 50000 conidios/g y un tiempo de fermentación de 8 días se obtuvieron los mayores valores de concentración de proteínas y biomasa.

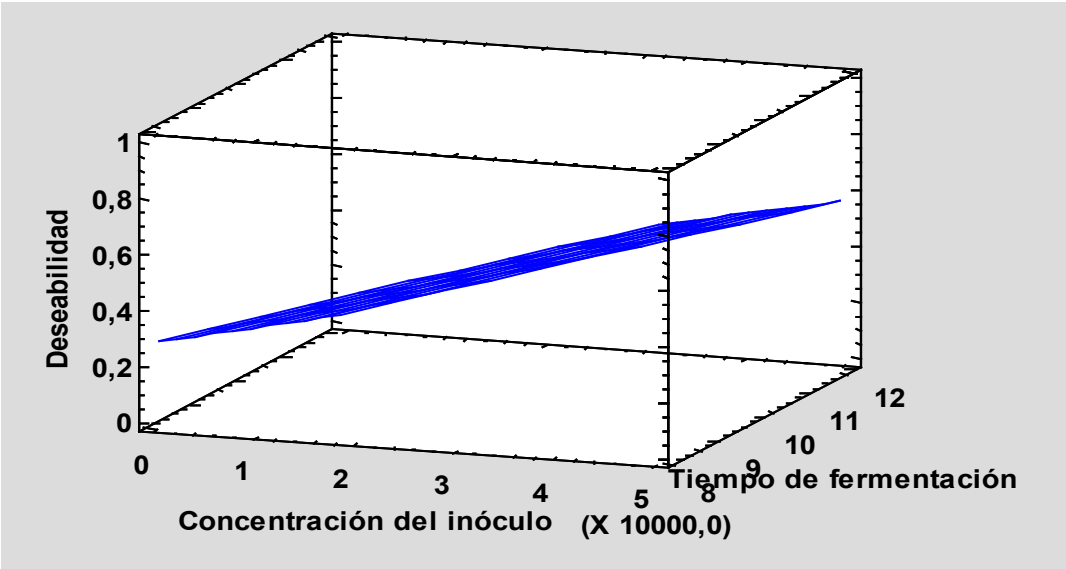

Figura 5. Diagrama de Superficie de Respuesta Estimada

Los valores óptimos obtenidos para ambas variables respuestas fueron de 15,48 mg/mL para la concentración de proteínas y 1,20 g/mL para la concentración de biomasa (Tabla 1).

Respuesta	Óptimo
Concentración de proteínas (mg/mL)	15,48
Concentración de biomasa (g/mL)	1,20

Tabla 1. Valores óptimos de concentración de proteínas y biomasa

DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se han comparado con enriquecimientos proteicos en otros sustratos como la pulpa de la yuca mediante fermentación en estado sólido utilizando cepas de *A. niger*, obteniendo incrementos proteicos de 21.54% en 8 días de cultivo, coincidiendo este tiempo de fermentación con el empleando en esta investigación[12]. También se han utilizado residuos lignocelulósicos de maíz empleando biorreactores de tanque agitado con la acción de varios microorganismos obteniendo en un tiempo de 96 horas (4 días) valores superiores al 28%, lo que demuestra que el tiempo de fermentación es una variable de gran utilidad a estudiar en el proceso de fermentativo, así como la composición del sustrato lo que puede contribuir a disminuir los costos en este proceso[1].

El *A.niger* también se ha utilizado para el incremento proteico en sustratos como lo es la papa, la sandía y la piña donde en 14 días de cultivo se obtuvieron porcentajes mayores al 70%, lo que demuestra el potencial biotecnológico que tienen los desechos agroindustriales en el enriquecimiento proteico[6].

CONCLUSIONES

Se incrementó la concentración de proteínas en el raquis de *E. guineensis* al utilizar *A. niger*, a valores desde 2,94 a 15,48 mg/mL. Los factores concentración del inóculo y tiempo de fermentación influyeron significativamente sobre el crecimiento de *A. niger* en el raquis de *E. guineensis*. Es decir con la mayor concentración del inóculo (50000 conidios/g) utilizada en esta investigación y el menor tiempo (8 días) se logró enriquecer con proteínas este sustrato.

La concentración de biomasa estimada en el crecimiento fúngico presentó un comportamiento similar a la concentración de proteínas en cuanto a la incidencia de los factores concentración del inóculo y tiempo de fermentación.

Existe relación entre la concentración de biomasa y la concentración de proteínas ya que a medida que trancurre el proceso fermentativo la población celular aumenta y con esta la síntesis de proteínas necesarias para el metabolismo celular.

Adicionalmente este estudio destaca el potencial del raquis de la palma africana como un sustrato alternativo para el enriquecimiento proteico, contribuyendo a la valorización de este residuo agroindustrial, además la utilización de microorganismos como *Aspergillus niger* para el enriquecimiento proteico ofrece una alternativa sostenible y eco-amigable frente a métodos tradicionales que podrían generar impactos ambientales.

Esta investigación podría contribuir al desarrollo de nuevas fuentes de proteínas para la alimentación animal, lo que tendría un impacto positivo en la seguridad alimentaria.

Se identificaron limitaciones que pueden ser consideradas para futuras investigaciones como lo fue el número pequeño de muestras, así como factores que no fueron controlados como la composición química del raquis utilizado, el pH, la humedad del medio, el consumo de sustrato y oxígeno por el microorganismo.

Como recomendaciones a futuras investigaciones se pudiera evaluar estos factores, además de aumentar la masa de sustrato, así como analizar la combinación con otros residuos orgánicos como medio para el crecimiento de *A. niger*.

Es importante continuar investigando en esta línea para comprender mejor los mecanismos involucrados en el enriquecimiento proteico y para desarrollar tecnologías eficientes y sostenibles que permitan aprovechar el potencial del raquis de la palma africana y otros residuos agroindustriales.

ANEXOS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración del inóculo	4,16541	1	4,16541	24,90	0,0011
B: Días de fermentación	1,47701	1	1,47701	8,83	0,0178
AB	0,063075	1	0,063075	0,38	0,5563
Error total	1,3384	8	0,1673		
Total (corr.)	7,04389	11			

Anexo 1. Análisis de Varianza para la concentración de proteínas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración del inóculo	0,1083	1	0,1083	29,74	0,0006
B: Días de fermentación	0,0261333	1	0,0261333	7,18	0,0280
AB	0,0012	1	0,0012	0,33	0,5817
Error total	0,0291333	8	0,00364167		
Total (corr.)	0,164767	11			

Anexo 2. Análisis de Varianza para la concentración de biomasa

Author Contributions:

Ambos autores contribuyeron con iguales aportes a la elaboración de este artículo tanto en la experimentación, análisis de datos, discusión de resultados y la escritura del mismo.

Funding: Please add: "This research received no external funding."

Institutional Review Board Statement: Exclude this statement if the study did not include humans or animals.

Informed Consent Statement: "Not applicable"

Data Availability Statement: The study did not report any data.

Acknowledgments: "Not applicable"

Conflicts of Interest: "The authors declare no conflict of interest."

REFERENCIAS

1. Molina A. Evaluación económica y financiera de las alternativas de uso de los residuos de la materia prima de una planta industrial de extracción de palma de aceite. Dictamen Libre. 2018 May 11;(22):77–89.
2. INEC. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020. 2021.
3. Malacatus PN, Guerrero BV, Llerena GM. Generación de efluentes en el proceso de extracción de aceite crudo de Palma en el Ecuador. Dominio de las Ciencias. 2017;3(4):459–69.
4. Bardales CB, Cabos JD, León CA, Jara EL. Enriquecimiento proteico de los principales residuos lignocelulósicos agroindustriales de la Región La Libertad con la asociación mixta de Trichoderma reesei, Chaetomiun cellulolyticum y Candida utilis para alimentación animal. Arnaldoa. 2020;27:99–114.
5. Lübeck M, Lübeck PS. Fungal Cell Factories for Efficient and Sustainable Production of Proteins and Peptides. Microorganisms 2022, Vol 10, Page 753 [Internet]. 2022 Mar 30 [cited 2023 Oct 2];10(4):753. Available from: https://www.mdpi.com/1567336
6. Adu SK. Biotechnological potential of agro-industrial wastes for protein enrichment by solid-state fermentation using Aspergillus niger. Stud Fungi. 2018 Oct;3:176–86.
7. León A, Santacruz S. Elaboración de Briquetas a partir de Subproductos de Palma Africana (Elaeis guineensis J) y Arroz (Oryza sativa L). Revista Politécnica. 2021 Oct;48:65–70.
8. Fonseca L, Fernández D, López O. Enriquecimiento proteico de Solanum tuberosum mediante fermentación en estado sólido utilizando Aspergillus niger. Bionatura. 2020 Oct;5:1189–94.
9. Thierer J. In Search of the Significant p. Its Influence on the Credibility of Publications. Rev Argent Cardiol. 2020 Oct;88:173–8.
10. Bertrand R. Lag Phase Is a Dynamic, Organized, Adaptive, and Evolvable Period That Prepares Bacteria for Cell Division. J Bacteriol. 2019 Oct;201.
11. Lübeck M, Lübeck PS. Fungal Cell Factories for Efficient and Sustainable Production of Proteins and Peptides. Microorganisms [Internet]. 2022;10(4). Available from: https://www.mdpi.com/2076-2607/10/4/753.
12. Yafetto L. Protein enrichment of cassava pulp by solid-state fermentation using Aspergillus niger. Stud Fungi. 2018 Oct;3:7–18.

Received: April 1, 2024 / Accepted: May 20, 2024 / Published: June 15, 2024.

Citation: Cristina Dumas L , Fernández D. Incremento proteico del raquis de la Palma Africana (Elaeis guineensis) utilizando Aspergillus niger .Bionatura Journal 2024; 1 (2) 9.
http://dx.doi.org/10.70099/BJ/2024.01.02.9

Additional information
ISSN 3020-7886
Correspondence should be addressed to *da.fernandez@uta.edu.ec*

Peer review information. Bionatura Journal thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this paper using https://reviewerlocator.webofscience.com/.
All articles published by Bionatura Journal are freely and permanently accessible online immediately upon publication, with no subscription fees or registration barriers.
Editor's note: Bionatura Journal remains neutral regarding jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.
Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).