



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD INGENIERIA
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Valorización del suero de queso para la obtención de aceites unicelulares de
interés industrial

Trabajo de Titulación para optar al título de
Ingeniera en Agroindustria

Autor:

Solórzano Guerrero, Amayaseth Elizabeth

Tutor:

Ph.D. Rodas Espinoza, Sonia Lourdes

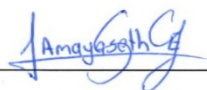
Riobamba, Ecuador. 2025

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Yo, **Amayaseth Elizabeth Solórzano Guerrero**, con cédula de ciudadanía 0605380658, autora (a) (s) del trabajo de investigación titulado: **Valorización del suero de queso para la obtención de aceites unicelulares de interés industrial**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 12 de junio del 2025.



Amayaseth Elizabeth Solórzano Guerrero

C.I:0605380658

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, **Sonia Lourdes Rodas Espinoza** catedrático adscrito a la Facultad de Ingeniería, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: **Valorización del suero de queso para la obtención de aceites unicelulares de interés industrial**, bajo la autoría de **Amayaseth Elizabeth Solórzano Guerrero**; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 9 del mes de junio de 2025



Ing. Sonia Lourdes Rodas Espinoza PhD.

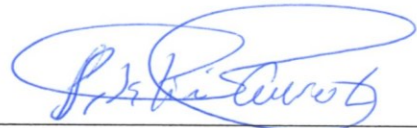
C.I: 0601864127

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Valorización del suero de queso para la obtención de aceites unicelulares de interés industrial**, presentado por **Amayaseth Elizabeth Solórzano Guerrero**, con cédula de identidad número **0605380658**, bajo la tutoría de **PhD. Sonia Lourdes Rodas Espinoza**; certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 12 de junio del 2025

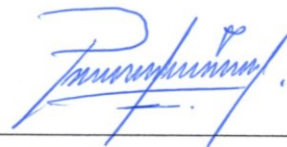
Mgs. Sebastián Guerrero
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



PhD. Víctor Valverde
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



PhD. Paúl Ricaurte
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



CERTIFICACIÓN

Que, **Solórzano Guerrero Amayaseth Elizabeth** con CC: **0605380658**, estudiante de la Carrera **AGROINDUSTRIA R-A**, Facultad de **INGENIERIA**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Valorización del suero de queso para la obtención de aceites unicelulares de interés industrial**", cumple con el 5 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **COMPILATIO**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 29 de Mayo de 2025



PhD. Sonia Rodas Espinoza
TUTORA

DEDICATORIA

A Dios por la vida, salud y sobre todo por las oportunidades. A mis padres Armando y Narcisa porque son mi ejemplo de perseverancia, superación y por esforzarse todos los días para que sus hijos cumplan sus metas. A mis hermanas Annabell y Mishell por apoyarme, compartir mis sueños y ser una guía en mi niñez.

Amayaseth Solórzano

AGRADECIMIENTO

A mis padres por su esfuerzo diario y sobre todo por apoyarme en cada instancia de este proyecto. A Cristian por ser mi compañero y apoyarme incondicionalmente en todo lo que hago. A la carrera de Ingeniería Agroindustria de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH) por brindarme los conocimientos necesarios para mi formación académica. A mis maestros y en especial a mis amigos por los conocimientos y experiencias compartidas.

Amayaseth Solórzano

ÍNDICE GENERAL

DECLARATORIA DE AUTORÍA	
DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR	
CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	
CERTIFICADO ANTIPLAGIO	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	

CAPÍTULO I. INTRODUCCION

1.1	Antecedentes	14
1.2	Problema	15
1.3	Justificación	16
1.4	Objetivos.....	18
1.4.1	General.....	18
1.4.2	Específicos	18

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1	Marco referencial	19
2.2	Marco teórico	22
2.2.1	Valorización de Residuos Agroindustriales	22
2.2.2	Suero de queso un subproducto de la industria láctea	23
2.2.3	Aceites Unicelulares	24
2.2.3.1	Microorganismos Oleaginosos para obtener aceites unicelulares	25
2.2.3.2	<i>Mortierella Isabelline</i>	25

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1	Tipo de Investigación	27
3.2	Diseño de Investigación.....	27
3.2.1	Materiales y Equipos para extracción de aceite unicelular	27
3.2.2	Diagrama de flujo para la extracción de aceite unicelular	28
3.2.3	Procedimiento de la extracción de aceite unicelular	29
3.2.4	Fase 1: Aislamiento y purificación de <i>Mortierella isabellina</i>	29

3.2.5	Fase 2: Análisis del suero antes y después de la desproteinización	31
3.2.6	Fase 3: Obtención de aceite unicelular	32
3.2.7	Fase 4: Cuantificación del aceite unicelular	34
3.3	Técnicas de Recolección de Datos	34
3.4	Población y Muestra	34
3.5	Procesamiento de Datos.....	34
3.6	Método de análisis.....	35

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Elección e identificación de <i>Mortierella isabelina</i>	36
4.2	Suero de queso fresco desproteinizado y enriquecido.....	39
4.3	Biomasa seca obtenida del suero desproteinizado como sustrato	40
4.4	Cuantificación del aceite unicelular	41

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	CONCLUSIONES	43
5.2	RECOMENDACIONES.....	44

BIBLIOGRAFÍA	45
---------------------------	-----------

ANEXOS	50
---------------------	-----------

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición promedio de lactosuero	24
Tabla 2: Insumos y materiales utilizados en el trabajo de investigación	28
Tabla 3: Equipos utilizados en el trabajo de investigación	28
Tabla 4: Fuentes de energía para enriquecer el suero desproteínizado.....	33
Tabla 5: Evolución de la <i>Mortierella isabellina</i> durante la incubación	37
Tabla 6: Análisis Físicoquímico del suero fresco y suero desproteínizado	39
Tabla 7: Características de la biomasa después del período de cultivo	40
Tabla 8: Cuantificación de aceite unicelular de las tres concentraciones	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Flujograma de procesos metodológicos	29
Figura 2: Placas cultivadas durante la incubación de las muestras	36
Figura 3: Cultivo de <i>Mortierella isabellina</i> referencia vs. resultado experimental	37
Figura 4: Cultivo de <i>Mortierella isabellina</i> referencia vs. Cultivo puro	38
Figura 5: Vista microscópica de <i>Mortierella isabellina</i>	38
Figura 6: Aceite extraído de biomasa seca.....	41
Figura 7: Gráfica de medias del rendimiento de aceite unicelular	42

RESUMEN

El presente proyecto tuvo como objetivo emplear el suero de quesería como sustrato para producir aceites unicelulares de interés industrial, utilizando el hongo oleaginoso *Mortierella isabellina*, conocido por su alta capacidad de producción de lípidos. Se utilizó una metodología mixta y experimental, enfocada en la producción de lípidos. Se aisló el microorganismo *Mortierella isabellina* a partir de una muestra de suelo con materia vegetal en descomposición, luego de siete días se obtuvo un cultivo puro de este tipo de hongo oleaginoso. Con el propósito de mejorar la producción de lípidos, se sometió a un tratamiento térmico al suero de queso fresco llamado desproteinizó. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas del suero de quesería desproteinado y del suero sin tratar. Las principales propiedades fueron: el pH del suero desproteinado fue de 5,45 frente a 6,26 del suero normal. Los sólidos totales fueron 6,02 y 7,14 respectivamente. La proteína fue eliminada por completo (0,00) frente a 2,24 al suero normal; esta eliminación fue necesaria ya que la proteína puede interferir con el crecimiento del microorganismo. Se cultivó *Mortierella isabellina* en suero de queso desproteinado y enriquecido con fuentes de energía como carbono (glucosa) y nitrógeno (levadura). El cultivo se llevó a cabo en tres matraces erlenmeyer etiquetados como TG1, TG2 y TG3. Tras siete días de incubación, los resultados demostraron que la mejor concentración de lípidos se obtuvo en el tratamiento TG3, con un 11,53% de lípidos. Los resultados mostraron que la *Mortierella isabellina* sirve como fuente para obtener aceite unicelular a partir de residuos agroindustriales, como el suero de leche. El aceite obtenido fue producido a escala de laboratorio, pero este proceso puede ser escalado a nivel industrial. Este aceite puede ser utilizado en distintas industrias, como la farmacéutica y la cosmética, además de ser una opción viable para la formulación de nuevos alimentos.

Palabras claves: Suero de queso fresco, *Mortierella isabellina*, aceite unicelular, hongos oleaginosos.

ABSTRACT

The objective of this project was to utilize cheese whey as a substrate for the production of single-cell oils of industrial interest, using the oleaginous fungus *Mortierella isabellina*, known for its high lipid-producing capacity. A mixed and experimental methodology was employed, focused on lipid production. *Mortierella isabellina* was isolated from a soil sample containing decomposing plant matter, and after seven days, a pure culture of this oleaginous fungus was obtained. To enhance lipid production, fresh cheese whey was deproteinized. The physicochemical properties of both deproteinized and untreated cheese whey were going to be evaluated. Key properties included a pH of 5.45 for the deproteinized whey compared to 6.26 for the untreated whey and total solids of 6.02% and 7.14%, respectively. Protein content in the deproteinized whey was removed entirely (0.00%) compared to 2.24% in the untreated sample—an essential step, as protein can interfere with microorganism growth. *Mortierella isabellina* was cultivated in deproteinized whey enriched with carbon (glucose) and nitrogen (yeast) sources. The culture was conducted in three Erlenmeyer flasks labeled TG1, TG2, and TG3. After seven days of incubation, results showed that the highest lipid concentration was achieved in treatment TG3, with 11.53% lipids. The findings demonstrate that *Mortierella isabellina* is a viable source for obtaining single-cell oil from agro-industrial waste such as cheese whey. Although the oil was produced at a laboratory scale, the process can be scaled up for industrial applications. This oil has potential uses in various industries, including pharmaceuticals and cosmetics, and represents a viable option for the formulation of new food products.

Keywords: Fresh cheese whey, *Mortierella isabellina*, single-cell oil, oleaginous fungi.



Reviewed by:
Ms.C. Ana Maldonado León
ENGLISH PROFESSOR
C.I.0601975980

CAPÍTULO I. INTRODUCCION

1.1 Antecedentes

El suero de quesería, un subproducto de la industria láctea, contiene un alto contenido de materia orgánica y nutrientes que al tratarlo pueden convertirse en un subproducto de alto valor añadido. En los últimos años, se ha intensificado el interés por encontrar métodos sostenibles y rentables para valorizar este producto secundario. Entre estas posibles aplicaciones, destaca la obtención de aceites unicelulares, reconocidos por su composición única y sus múltiples aplicaciones en otras industrias (Akpinar Bayizit et al., 2014).

Actualmente, una gran parte del suero de leche generado por la industria láctea se elimina sin recibir ningún tratamiento previo, lo que representa un problema ambiental importante debido a su alta carga orgánica (Chan et al., 2018). Por esta razón, se buscan soluciones para reutilizar este subproducto y aprovechar sus nutrientes, reduciendo su impacto en el medio ambiente. Una de estas soluciones es utilizar el suero de queso como sustrato de bajo costo en procesos de fermentaciones para el crecimiento microbiano (Herrero & Alvarez, 2016).

Los microorganismos oleaginosos, son conocidos por su capacidad de acumular lípidos intracelulares en una proporción de al menos el 15% (p/p) de su biomasa seca total, cuando se cultiva bajo condiciones apropiadas (Vainio et al., 2019). Este aceite se presenta como una alternativa prometedora a los aceites vegetales tradicionales para la producción de biodiésel y otros productos químicos de base biológica (Akpinar Bayizit et al., 2014).

Las bacterias oleaginosas, los hongos filamentosos, las microalgas y las levaduras pueden crecer y sintetizar lípidos utilizando suero de queso como sustrato. Uno de los hongos oleaginosos más prometedores para este fin es *Mortierella isabellina*, ya que tiene una alta capacidad para acumular lípidos en su biomasa, alcanzando hasta el 80% de su peso seco. Esto lo convierte en una opción atractiva para la producción de aceites unicelulares ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido gamma-linolénico y el ácido araquidónico (Sallet, 2017).

Esto se demuestra en la investigación de Seo et al. (2014) quienes evaluaron la capacidad de nueve hongos oleaginosos de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Mortierella* y *Cunninghamella* para producir aceite a partir de residuos como glicerol, extracto de piel de naranja (OPE) y suero de queso ricotta (RCW). Los resultados mostraron que *Mortierella isabellina* NRRL 1757 fue la más eficiente, logrando la mayor productividad de lípidos.

Otras investigaciones, como la de Vyas & Chhabra (2019) que utilizaron suero de queso sin tratar y suero desproteínizado como sustrato para levaduras con el fin de obtener aceite unicelular, demostraron que el suero de queso puede emplearse como sustrato. Además, los resultados indicaron que el rendimiento de la levadura fue mejor cuando se utilizó suero desproteínizado. Ya que este proceso ayudó al microorganismo a acumular más biomasa.

Por ello, se considera que este tipo de hongo filamentoso del género *Mortierella*, perteneciente al orden *Mortierellales* dentro del filo *Mucoromycota*, es capaz de utilizar el suero de queso como sustrato ya que actúa como fuente de nutrientes, acumulando biomasa y lípidos con resultados prometedores. Hasta ahora, la mayoría de las investigaciones se han realizado a escala de laboratorio, pero el proceso para obtener aceite a partir de cultivos es factible de escalar a nivel industrial. Al lograrlo, se obtendría un aceite con gran potencial para distintos sectores industriales, permitiendo el desarrollo de nuevas formulaciones y contribuyendo a la reducción del desperdicio de este subproducto (suero de industria láctea). Esto favorecería la economía circular y alinearía el proceso con los objetivos de la Agenda 2030.

1.2 Problema

En Ecuador, la industria láctea desempeña un papel fundamental en el sector alimentario, ya que garantiza la soberanía alimentaria al generar cerca de 1 500 millones de ingresos para las personas involucradas en la cadena productiva del sector. Además, contribuye con el 6,4 % al Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario y un 0,6 % al PIB nacional (Centro de la Industria Láctea [CIL] Ecuador, 2024).

El consumo de los productos lácteos en el país según datos de la Federación Panamericana de Lechería (FEPAL) se distribuye de la siguiente manera: leche líquida 50,3 %, queso 15,6 %, leche en polvo 12,7 %, otros productos como bebidas lácteas y leche condensada 12,3 %, y yogur 9,1 %.

El queso, al ser el segundo producto lácteo más consumido después de la leche líquida, genera como subproducto el suero de queso, considerado como un desperdicio industrial con gran carga de nutrientes. Según el Centro de la Industria Láctea (CIL), en 2019 se generaron aproximadamente 900 000 L de suero al día. Sin embargo, solo el 10 % de este subproducto se aprovecha en la industria del país, mientras que el restante 90 % se desecha sin pretratamiento, ocasionando graves problemas ambientales en el entorno (Zotta et al., 2020).

Por cada 100 kg de leche usada en la fabricación de quesos, se generan alrededor de 9,3 kg de queso fresco y aproximadamente 90,7 kg de suero de leche. Estos datos demuestran que el suero de queso que se produce es mucho mayor al producto principal, lo que lleva a buscar alternativas para aprovecharlo y evitar su desperdicio.

El lactosuero contiene una gran cantidad de nutrientes, pero al mismo tiempo presenta un alto poder contaminante, con una demanda biológica de oxígeno entre 30 000-50 000 mg/L (Pais Chanfrau et al. 2017). Estos datos demuestran que el suero de queso que se

produce es mucho mayor al producto principal, lo que lleva a buscar alternativas para aprovecharlo y evitar su desperdicio.

Este subproducto contiene compuestos orgánica como proteínas, lípidos y minerales, lo que lo convierte en un compuesto con gran potencial para agregar valor. Sin embargo, si no se maneja adecuadamente, puede provocar problemas de contaminación del agua y suelos, convirtiéndose en un problema en el medio ambiente. Además, representa un problema económico al no aprovecharse los nutrientes contenidos en este residuo (Zambrano & López, 2018).

El tratamiento convencional del suero de queso fresco, como la evaporación o el vertido directo, conlleva costos significativos y puede no ser económicamente sostenible para muchas plantas procesadoras de lácteos, que optan estas opciones por comodidad o por la inversión que conlleva tratar este desecho. Además, la falta de información sobre las bondades nutricionales de este subproducto agrava el problema ya que se piensa que no se puede aprovechar (Cossio Colque & Chipana Mendoza, 2022).

1.3 Justificación

Esta investigación tiene como objetivo desarrollar un método para obtener aceite unicelular mediante el cultivo de *Mortierella isabellina*, utilizando suero de queso fresco como sustrato, aprovechando así este desecho agroindustrial de alto valor nutricional. Aunque existen productos derivados de este subproducto, no se logra utilizar el 100 % del suero generado. Por ello, se plantean alternativas que permitan emplearlo en aplicaciones diferentes a las ya existentes en el mercado, evitando su desperdicio y mitigando los daños ambientales asociados a su eliminación inadecuada (Aguilar et al., 2022).

Con esta investigación se busca aprovechar los residuos agroindustriales, permitiendo transformar el suero de queso fresco, un producto contaminante por su manera de tratarse, en un producto con diversas utilidades como el aceite unicelular. Esto contribuye a una economía circular al impulsar la sostenibilidad industrial mediante la utilización del desperdicio de otro producto como materia prima, ayudando a optimizar el uso de recursos y diversificando los productos derivados (Preciado-Saldaña et al., 2022).

Una alternativa para mejorar este desperdicio es extraer los lípidos o aceites unicelulares del suero de leche, ya que este producto es viable para generar compuestos de interés para diversos sectores industriales. Es por ello, que existen varias opciones en materia biotecnológicas para aprovechar los compuestos orgánicos de este subproducto y procesarlos para desarrollar un nuevo producto con valor agregado (Aguilar et al., 2022).

Un método innovador para extraer aceite unicelular a partir del suero de queso es el uso de hongos oleaginosos. Estos hongos emplean el suero como sustrato para su alimentación y acumulación de biomasa celular y lípidos. Este proceso implica desarrollar un ambiente adecuado que favorezcan el crecimiento del hongo, una vez el microorganismo

alcanza una biomasa considerable, se extraen los lípidos utilizando solventes que ayuden a la separación del aceite de la biomasa (Herrero & Álvarez, 2016).

El aceite obtenido tiene gran potencial como fuente de energía renovable, especialmente en la producción de biodiésel. Estos aceites unicelulares ofrecen ventajas significativas: no compiten con los aceites comestibles, su producción no está limitada a regiones geográficas específicas, no dependen de las condiciones climáticas, pueden producirse en biorreactores bajo condiciones controladas y requieren ciclos de producción más cortos. Además, los lípidos microbianos permiten obtener aceites con diferentes composiciones químicas, adecuados para una amplia gama de aplicaciones industriales (Herrero & Álvarez, 2016).

Estos microorganismos pueden crecer y acumular lípidos a partir de una amplia variedad de fuentes de carbono, y su perfil de ácidos grasos varía según distintos factores ambientales. Los desechos agroindustriales, como el suero de queso, los hidrolizados lignocelulósicos, el aceite de cocina usado, los refrescos caducados y las aguas residuales de las almazaras, podrían valorizarse como sustratos económicos para la producción de aceite unicelular (SCO), ofreciendo una solución rentable y sostenible (Kamoun et al., 2018).

Se consideran oleaginosos aquellos microorganismos capaces de acumular más del 20 % de lípidos en su biomasa seca. Entre las especies de hongos que presentan esta característica se encuentran *Aspergillus terreus*, *Mortierella alpine*, *Mucor circinelloides*, *Debaryomyces etchellsii* y *Mortierella isabelina* (Kamoun et al., 2018). Se han examinado varios microorganismos, en particular por su potencial para asimilar desechos industriales económicos como sustrato y se ha demostrado que *Mortierella isabellina* crece en azúcares lignocelulósicos y produce hasta un 60 % de lípidos siendo la mejor opción para este tipo de investigaciones (Gardeli et al., 2017).

Al utilizar procesos y métodos biotecnológicos, los beneficios son significativos ya que se extrae el aceite unicelular en un laboratorio con ambientes y procesos controlados, sin mencionar los bajos costos en el desarrollo para la producción de este producto. Este nuevo producto puede tener diversas aplicaciones en varios sectores industriales, como la alimentación, la cosmética, incluso en el sector de biocombustibles.

Estos procesos biotecnológicos requieren metodologías específicas para su implementación, y muchas de estas aún no están completamente definidas (Díaz Aguilar et al., 2022). Lo innovador de esta investigación radica en el desarrollo de técnicas mejoradas en base a otras investigaciones similares para el cultivo de hongos oleaginosos.

1.4 Objetivos

1.4.1 General

Emplear el suero de quesería para producir aceites unicelulares de interés industrial.

1.4.2 Específicos

- Aislar el hongo *Mortierella isabellina* con capacidad oleaginosa a partir de muestra de suelo y materia vegetal en descomposición.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas del suero de quesería antes y después de la desproteinización.
- Desarrollar un método para obtener aceite unicelular mediante el cultivo *Mortierella isabellina* utilizando suero de quesería como sustrato.
- Cuantificar el aceite unicelular obtenido del suero de quesería.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Marco referencial

En este apartado se recopilan varias investigaciones con temas afines al planteado en este proyecto. Estas referencias bibliográficas no solo contribuyeron a definir una línea metodológica adecuada, sino también a seleccionar la opción más idónea para el uso de microorganismo para este trabajo de investigación, ya que estos estudios evalúan varias cepas de hongos oleaginosos para la producción de aceite unicelular.

Seo et al. (2014) evaluaron la capacidad de nueve hongos oleaginosos (*Aspergillus*, *Mucor*, *Mortierella* y *Cunninghamella*) para producir aceite a partir de glicerol, extracto de piel de naranja (OPE) y suero de queso ricotta (RCW). Los hongos fueron cultivados en matraces agitados y posteriormente se analizó la composición lipídica de los aceites obtenidos, comparándolos con los de palma y *Jatropha* para su uso en biodiésel. Los resultados que obtuvieron fueron que *Mortierella isabellina* NRRL 1757 fue la cepa más eficiente, logrando productividades de 0,46 g/L/día en glicerol, 1,24 g/L/día en OPE y 0,91 g/L/día en RCW. Luego, se escaló su cultivo a un reactor de tanque agitado utilizando los mismos sustratos. Los autores concluyeron que *Mortierella isabellina* presenta un alto potencial para la producción de aceites de interés industrial a partir de residuos agroindustriales.

En el estudio de Akpinar Bayazit et al. (2014) se evaluó la producción de aceite unicelular en especies del género *Fusarium* utilizando suero de leche como sustrato. El medio de cultivo fue preparado con suero de queso, ajustado a pH 6,0-6,5 y esterilizado. Las especies de *Fusarium* fueron cultivadas en condiciones controladas hasta obtener biomasa suficiente, la cual se separó por filtración al vacío, se lavó, secó y sometió a extracción lipídica con cloroformo/metanol. Los resultados que obtuvieron fueron contenidos de lípidos entre 67,5 y 221,25 mg en biomasa húmeda, destacando *Fusarium graminearum* con 86,61 % de lípidos, seguido por *Fusarium semitectum* con 80,60 %.

Taskin et al. (2015) estudiaron la producción de lípidos por *Yarrowia lipolytica* B9 adaptada al frío en suero de queso desproteinizado no estéril. Utilizaron 1L de suero de leche desproteinizado, el cual fue precipitado a 90 °C durante 5-25 minutos para eliminar proteínas. Optimizaron las condiciones de cultivo (pH 5,5, 15 °C, inóculo de 3 mL/100 mL) y suplementaron con lactosa, sulfato de amonio y fosfato dihidrógeno de potasio para maximizar la acumulación lipídica. Los resultados que obtuvieron fueron una concentración de biomasa de 7,4 g/L y un contenido lipídico del 58 %, con 4,29 g/L de lípidos. El perfil de ácidos grasos incluyó un 91,98 % de C16 y C18, con un 80,54 % de monoinsaturados, adecuados para aceites industriales en condiciones frías. Los autores concluyeron que *Y. lipolytica* B9 es altamente eficiente en la producción de lípidos en suero de queso desproteinizado.

Akpınar Bayazit et al. (2016) investigaron la capacidad de *Saprolegnia diclina* IMI 318623 para producir biomasa y lípidos utilizando suero de queso como fuente de carbono. El hongo, obtenido del Instituto Micológico Internacional (IMI, Reino Unido), fue cultivado en agar papa dextrosa (PDA) y en un medio con suero en polvo (20 g/L) en reemplazo de la glucosa. Las células fúngicas fueron recolectadas y se extrajeron los lípidos siguiendo un protocolo que los autores adaptaron de otros autores revisados en su bibliografía. El total de lípidos acumulados en la biomasa de los hongos examinados osciló entre 0,1467 y 0,8661 mg de lípidos por mg de peso húmedo. Los autores concluyeron que *S. diclina* pudo utilizar el suero, acumulando biomasa y lípidos, pero no sintetizó adecuadamente ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de cadena larga, posiblemente por la ausencia de desaturasas y elongasas necesarias para producir ácidos grasos omega-3 ($\omega 3$).

Herrero & Álvarez (2016) estudiaron el potencial de cepas del género *Rhodococcus* para producir biomasa y lípidos utilizando suero de leche como fuente de carbono renovable. Realizaron un análisis bioinformático para identificar los genes responsables del transporte y degradación de lactosa y galactosa, determinando qué cepas tenían el potencial metabólico necesario. Utilizaron suero de queso mozzarella, el cual fue sometido a hidrólisis ácida con ácido trifluoroacético para obtener azúcares simples. Los resultados que obtuvieron fueron que las cepas *R. opacus* (PD630 y MR22) crecieron utilizando lactosa y galactosa, y exhibieron altos rendimientos de biomasa (6,1–6,3 g/L) y contenido de lípidos (45–48% de peso seco de biomasa, CDW). Además, el cultivo de células de *R. opacus* en suero crudo resultó en un aumento de la producción de lípidos de 3,0 a 6,4 g/L, en comparación con el permeado de suero. En contraste, las cepas *R. jostii*, *R. erythropolis*, *R. fascians* y *R. equi* produjeron baja biomasa (1,8–2,9 g/L) y lípidos (menos del 5% de CDW) a partir del suero.

Chaparro (2017) evaluó la viabilidad del suero lácteo como sustrato para la producción de biomasa y lípidos en la microalga *Chlorella vulgaris*. Se cultivó la microalga en diferentes concentraciones de suero lácteo y agua destilada mejorando las condiciones para optimizar el crecimiento de la microalga. Además, el rendimiento de biomasa húmeda (70,63 g/L) y la productividad volumétrica (0,076 g/d·L) fueron superiores en los cultivos con suero, en contraste con el control (14,90 g/L y 0,05 g/d·L).

Carota et al. (2017) investigaron la viabilidad del suero de ricotta como medio de cultivo para la producción de lípidos utilizando 18 cepas de levaduras oleaginosas, con el objetivo de evaluar su potencial como recurso para la producción de aceites de interés industrial (biodiésel). Las cepas que escogieron los autores fueron de acuerdo con su capacidad de acumulación de lípidos en suero ricotta. Estos microorganismos fueron cultivados en condiciones controladas. Analizaron el perfil de ácidos grasos (FAME) en los lípidos extraídos para determinar su compatibilidad con biodiésel.

Las cepas *Cryptococcus curvatus* NRRL Y-1511 y *Cryptococcus laurentii* UCD 68-201 mostraron altos rendimientos de lípidos (6,8 y 5,1 g/L) con predominancia de ácido oleico y ácidos grasos saturados. La cepa *Cryptococcus laurentii* UCD 68-201 fue seleccionada para un experimento en un biorreactor de 3 litros, el rendimiento de esta cepa se midió en la cantidad total de lípidos producidos (9,9 g/L) y se determinó el rendimiento

de biodiésel (32,6 %). El perfil de FAME modificado en el biorreactor fue similar al aceite de *Jatropha*, consolidado como recurso para biodiésel.

Los autores Chan et al. (2018) investigaron la conversión del permeado de suero de queso en biomasa rica en aceite mediante el hongo *Mucor circinelloides*. La metodología que utilizaron los autores fue el permeado de suero (75-80 L) ajustado a pH 4,5, para generar un permeado hidrolizado con 6,3 % de sólidos, 0,26 % de proteínas y concentraciones específicas de glucosa, galactosa y lactosa. El permeado se pasteurizó y se incubó en muestras de *Mucor circinelloides* en placas de agar a 34 °C. Para determinar el rendimiento y coeficiente de la biomasa y lípidos, aplicaron la ecuación $\Delta P = \Delta X * (C_L/100)$ y empearon el análisis de varianza (ANOVA), encontrando que un pH de 4,5 era ideal para el rendimiento de biomasa, alcanzando 6,5 g/L. La fermentación a 72 °C durante 30 minutos resultó en un contenido de aceite intracelular del 15,8 % al 18 % a 33,6 °C tras 72 horas de fermentación. Los resultados indicaron que condiciones prolongadas de temperatura y tiempo favorecen la acumulación de aceite intracelular.

El estudio de Vyas & Chhabra (2019) evaluaron el suero de queso sin tratar (UCW) y desproteinizado (DCW) en diferentes concentraciones (25-100 %) como fuente de carbono y energía. La levadura se cultivó en medios de UCW sin tratamiento previo y DCW preparado mediante calentamiento y separación de proteínas. Los experimentos se realizaron en frascos erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio suplementado con minerales, incubados a 28 °C con agitación en 20 mL de cloroformo y metanol durante 3h. La mezcla se centrifugó a 8000 rpm durante 15 min para separar las fases acuosa y orgánica. Los autores midieron la biomasa gravimétricamente y los lípidos se extrajeron utilizando un de Bligh y Dyer citado por Vyas & Chhabra (2019). Se evaluaron el azúcar reductor total, el nitrógeno total Kjeldahl (TKN) y la demanda química de oxígeno soluble (sCOD). Los resultados mostraron que el suero desproteinizado mantuvo un mayor contenido de lípidos, mientras que el suero no tratado favoreció una alta biomasa celular.

Braz et al. (2020) investigaron la capacidad del hongo filamentoso *Mucor circinelloides* URM 4182 para producir biomasa rica en lípidos y lipasa unida a micelio. El proceso de fermentación se llevó a cabo durante un período de 120 h. Los autores analizaron la biomasa, midiendo su concentración, contenido lipídico y actividades lipolíticas. Además, se evaluó su eficacia en la producción de biogás a partir del suero de queso, examinando su impacto en la hidrólisis de lípidos durante la digestión anaeróbica. Los resultados demostraron que la incorporación de lipasa de *Mucor circinelloides* disminuyó la fase de latencia de la digestión anaeróbica en un 43,7 % y aumentó la producción de biogás hasta nueve veces en comparación con los controles. Esto ya que se obtuvo una concentración de biomasa de 4,7 g/L, con un 22,5 % de contenido lipídico en peso seco y una actividad lipolítica de hasta 160 U/g.

Caporusso et al. (2021) analizaron el potencial de las levaduras oleaginosas como levaduras capaces de producir lípidos con el objetivo de convertir residuos agroalimentarios en productos de gran valor, alineándose con los principios de la economía circular y mejorando la sostenibilidad de la producción agroindustrial. Según los autores la industria

agroalimentaria genera extensas cantidades de residuos y desechos de cultivos anualmente, estos desperdicios no suelen ser tratados y se desperdician ya que algunos subproductos se pueden aprovechar. Según la economía circular para optimizar la cadena de valor los residuos pueden reutilizarse como materia prima para la formulación nuevos procesos. Es por ello que recomiendan la innovación en procesos para recuperar estos mal llamados desperdicios y generar a través de alternativas como las levaduras, aceites utilizables en distintas industrias.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Valorización de Residuos Agroindustriales

La valorización de residuos agroindustriales consiste en transformar subproductos y desechos generados por la industria agroalimentaria en productos de mayor valor. La mala gestión de estos residuos tiene un impacto negativo y significativo en el equilibrio ambiental. Por ello, es fundamental promover el tratamiento, la gestión y la reutilización de los residuos agroindustriales para mejorar la calidad ambiental y apoyar el desarrollo de una economía circular (Aguilar et al., 2022).

El modelo de economía circular propone que los residuos se utilicen como insumos bioactivos de alto valor biológico para la innovación y el desarrollo de nuevos productos derivados de la extracción de compuestos bioquímicos. Estos extractos han sido evaluados en estudios de laboratorio, demostrando su potencial como nutracéuticos. Además, los subproductos y extractos obtenidos pueden emplearse en la formulación de nuevos alimentos funcionales, así como en la adición, sustitución o enriquecimiento de alimentos existentes (Preciado-Saldaña et al., 2022).

“La reducción de las pérdidas y el desperdicio de alimentos forma parte de la agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés)” (Preciado-Saldaña et al., 2022, p. 95). Esta organización se centra en incentivar la seguridad ambiental y alimentaria, al mismo tiempo busca minimizar los residuos industriales del sector. Su estrategia se centra en transformar los residuos industriales en nuevos productos, generando así valor añadido, reducción del impacto ambiental y oportunidades de empleo.

En este contexto, el sector lácteo destaca por su gran potencial, ya que los subproductos generados por esta industria, como el suero de leche, contienen compuestos de alto valor. Este subproducto suele desecharse sin previo tratamiento, lo que representa una pérdida de recursos con alto valor nutricional. Aunque en el mercado existen diversos productos elaborados a partir del suero de queso, su aprovechamiento aún no alcanza el 100%. La innovación desempeña un papel crucial en este ámbito, ya que permite desarrollar nuevas aplicaciones y productos que maximicen el uso de este recurso, aprovechando sus propiedades.

2.2.2 Suero de queso un subproducto de la industria láctea

El suero de queso es el subproducto obtenido durante la elaboración del queso fresco, a partir de la separación de la caseína. Este subproducto tiene un gran potencial para la obtención de nuevos productos de mayor valor agregado que el propio suero de leche debido a la carga de nutrientes que tiene. Existe una creciente demanda ambiental, respaldada por regulaciones medioambientales más rigurosas y una mayor conciencia sobre la necesidad de transformar el suero de leche en efluentes menos contaminantes. Si esta transformación resulta en la creación de productos, se podría amortizar, en parte, los recursos empleados en el proceso (Pais Chanfrau et al., 2017).

A nivel mundial, la producción anual de suero de queso alcanza aproximadamente 200 millones de toneladas. De este volumen, alrededor del 60 % se aprovecha industrialmente. El 40 % restante se destina a usos diversos, incluyendo alimentación animal, fertilizantes, o en algunos casos, se descarga directamente al medio ambiente sin tratamiento previo (Urtasun et al., 2018).

El sector lácteo en Ecuador es un importante generador de empleo, con aproximadamente 300 000 productores de leche en el país. Según datos del Centro de la Industria Láctea [CIL] Ecuador (2024), la producción nacional de leche alcanzó los 5,7 millones de litros diarios en 2023, de los cuales, el 51,8 % corresponde a la industria formal. Las principales provincias productoras son Pichincha, Santo Domingo, Cotopaxi, Manabí y Carchi, que en conjunto representan más del 60 % de la producción total.

Según datos de la Federación Panamericana de Lechería (FEPALE), después de la leche líquida (50,3 %), el queso es el segundo producto lácteo más consumido con 15,6 %, seguido de la leche en polvo (12,7 %), otros productos como bebidas lácteas y leche condensada (12,3 %) y el yogur (9,1 %) (Centro de la Industria Láctea [CIL] Ecuador, 2024). El queso, al ser uno de los productos más demandados, genera como subproducto el suero de queso, el cual posee un alto contenido de nutrientes y puede ser tratado para transformarse en un nuevo producto de valor agregado.

La composición química del suero de queso depende del método de coagulación utilizado para precipitar las proteínas de la leche. Si se emplean enzimas coagulantes, como la quimosina o reninas, se obtiene suero dulce con un pH entre 5,9 y 6,6. Por otro lado, cuando la coagulación se realiza mediante acidificación con bacterias productoras de ácido láctico o ácidos orgánicos o minerales, se genera suero ácido con un pH entre 4,3 y 4,6. En ambos casos, el suero representa entre el 80 % y el 90 % del volumen procesado de leche y conserva aproximadamente el 50 % de los nutrientes originales, como proteínas solubles, lactosa, minerales y vitaminas (Urtasun et al., 2018).

La composición del suero obtenido está influenciada por diversos factores, incluyendo el origen de la leche, el tratamiento térmico al que ha sido sometida, el tipo de queso producido, las técnicas de elaboración empleadas y las condiciones de almacenamiento (Lema Guamán, 2023). En la tabla 1 se presenta la composición promedio del lactosuero.

Tabla 1*Composición promedio de lactosuero*

Parámetros	Valor (%)
Agua	93.2
Lactosa	4.85
Proteína soluble	0.80
Grasa	0.50
Vitamina y minerales	0.60
Ácido láctico	0.05

Nota. Adaptado del estudio de (Calvopiña Toapanta & Manotoa Betancourt, 2020).

El suero de queso ofrece múltiples aplicaciones con gran potencial para promover la sostenibilidad. Por un lado, puede emplearse como sustrato en procesos de fermentación para la producción de biomasa microbiana rica en proteínas.

Por otro lado, la lactosa presente en el suero, en concentraciones que oscilan entre el 4,4 % y el 5,2 %, puede ser extraída y utilizada en la elaboración de fórmulas lácteas para bebés, además de aplicaciones en las industrias alimentaria y farmacéutica, debido a su bajo índice glucémico y calórico.

Asimismo, el suero de queso puede ser fermentado para obtener ácidos orgánicos, como el cítrico y el láctico, ampliamente utilizados en diversas industrias como conservantes y potenciadores de sabor. Todas estas características y cualidades del suero pueden ser aprovechados si emplea procesos biotecnológicos como el uso de microorganismos para producir lípidos como ácidos grasos poliinsaturados, útiles tanto en la alimentación como en la generación de biocombustibles (Osorio González et al., 2018).

2.2.3 Aceites Unicelulares

Los aceites unicelulares son lípidos producidos por microorganismos como algas, hongos y bacterias. Estos lípidos, cuya estructura molecular incluye una cadena de hidrocarburo alifática, se acumulan dentro de los microorganismos en forma de gotas. Las levaduras oleaginosas, en particular, generan lípidos con características similares a los aceites vegetales, presentan un cultivo relativamente sencillo y pueden utilizar diversos tipos de sustratos (Casas Godoy & Barrera Martínez, 2021).

“El aceite microbiano es un triglicérido producido por microbios, similar al aceite vegetal producido por las plantas. Los aceites microbianos incluyen ácidos grasos, como el palmítico, el esteárico y el oleico, así como los ácidos grasos omega-3, el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA)” (Chen & Zhang, 2015).

2.2.3.1 Microorganismos Oleaginosos para obtener aceites unicelulares

Se define como microorganismo oleaginoso (o microbio oleaginoso) aquel capaz de acumular lípidos intracelulares en una proporción de al menos el 15 % (p/p) de su biomasa total, medida en peso seco celular, cuando se cultiva bajo condiciones apropiadas (Vainio et al., 2019). Específicamente, se considera un microbio oleaginoso a aquel que puede acumular lípidos en una cantidad igual o superior al 20 % (p/p) de su biomasa total (en peso seco celular).

Algunos microorganismos bajo condiciones de cultivo adecuadas tienen la capacidad de acumular lípidos alcanzando niveles entre el 40 % y 70 % de su composición celular, lo que los convierte en fuentes potenciales de aceites y grasas. Esta capacidad de acumular fácilmente lípidos los hace particularmente interesantes para la producción de aceites (Faife Pérez et al. 2012). Estos microorganismos oleaginosos incluyen ciertas especies de microalgas, levaduras, bacterias y hongos (Vainio et al., 2019).

Para fines de obtención de aceites a escala industrial, se prefiere utilizar organismos como levaduras, hongos filamentosos o bacterias. Estos microorganismos ofrecen ventajas en términos de, rápido crecimiento, alta densidad celular, facilidad de manipulación genética y capacidad de crecer en sustratos de bajo costo. Además, estos microorganismos pueden adaptarse a diversas condiciones de cultivo y son capaces de producir aceites con perfiles lipídicos específicos, lo que los hace versátiles para diferentes aplicaciones industriales y biotecnológicas.

Las cepas fúngicas generalmente empleadas para la obtención de lípidos forman parte del género *Aspergillus*, en especial *Aspergillus oryzae*, y *Mortierella*, como *Mortierella isabellina*, entre otros (Vainio et al., 2019). La elección de estos microorganismos se basa principalmente en su capacidad para producir lípidos de manera eficiente y en la facilidad de acceso a las cepas en el entorno de investigación.

En cuanto a las levaduras, se suelen utilizar especies de géneros como *Cryptococcus* (*Cryptococcus curvatus*), *Rhodospiridium* (*Rhodospiridium toruloides*), *Rhodotorula* (*Rhodotorula glutinis*) y *Yarrowia* (*Yarrowia lipolytica*), entre otros. Para las bacterias, destacan géneros como *Rhodococcus*, *Acinetobacter* y *Streptomyces*, que también son eficientes en la producción de lípidos (Vainio et al., 2019).

2.2.3.2 *Mortierella Isabellina*

Es un tipo de hongo filamentoso del género *Mortierella*, perteneciente al orden *Mortierellales* dentro del filo *Mucoromycota*. Este hongo es conocido por su capacidad para acumular altos niveles de lípidos en su biomasa, alcanzando hasta el 80 % de su peso seco en condiciones de cultivo controlado, lo que lo convierte en un candidato atractivo para la producción de aceites unicelulares ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido gamma-linolénico (GLA) y el ácido araquidónico (Sallet, 2017).

La cepa *Mortierella isabellina*, *Mortierella alpina* *Cunninghamella* poseen la capacidad de acumular un gran porcentaje de su peso seco en forma de lípidos, lo que es significativamente más alto que muchos cultivos oleaginosos tradicionales y son conocidos por su tendencia a producir ácidos grasos esenciales como GLA y EPA en varios sustratos *Mucor (javanicus) circinelloides*. Además, tiene la capacidad de producir una gran cantidad de GLA (18-22%) más del doble que el aceite de onagra (Mares Ponce de León et al., 2017).

Mortierella isabellina destaca como un microorganismo capaz de acumular gran cantidad de aceites en comparación con las fuentes vegetales tradicionales, tanto en términos de rendimiento como de sostenibilidad. Por ello, los aceites derivados de este hongo oleaginoso son altamente valorados por sus múltiples beneficios y aplicaciones (Sallet, 2017).

Este hongo oleaginoso se puede cultivar en una amplia gama de sustratos que pueden encontrarse en distintos productos del sector alimentario. Generalmente se usan como sustratos de bajo costo los residuos agroindustriales con el fin de contribuir a la sostenibilidad al aprovechar los desperdicios que de otro modo serían desechados (Díaz Aguilar et al., 2022).

CAPÍTULO III. METODOLOGIA

3.1 Tipo de Investigación

Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que los resultados se midieron numéricamente las condiciones óptimas de operación para maximizar el rendimiento de aceite unicelular a partir del suero de queso a escala de laboratorio. Para ello, se realizaron diversos experimentos y análisis orientados a identificar los parámetros más eficientes que permitan obtener la mayor cantidad de aceite unicelular.

Asimismo, el estudio también incluyó un enfoque cualitativo, ya que cada etapa del proceso para la obtención del aceite unicelular será descrita detalladamente. Se especificarán las condiciones a las que fueron sometidos los cultivos de hongos, destacando las óptimas para el crecimiento de *Mortierella isabellina*. Además, se documentó el proceso completo de extracción del aceite unicelular.

3.2 Diseño de Investigación

El diseño de esta investigación fue de carácter experimental, enfocándose en la producción de lípidos, utilizando suero de queso fresco desproteinizado como sustrato para el microorganismo *Mortierella isabellina*. Para ello, se manipuló y controló variables operativas como el tiempo y la temperatura durante el proceso de obtención de aceite unicelular. Además, se valoró las condiciones óptimas para el crecimiento del cultivo como las concentraciones de energía, con el objetivo de identificar los parámetros más eficientes que permitan maximizar la producción de lípidos en la biomasa.

En particular, se evaluaron tres diferentes concentraciones de las fuentes de energía necesarias para el crecimiento del microorganismo, con el objetivo de identificar la concentración óptima que permita maximizar el rendimiento de biomasa en el suero de leche.

Aunque las pruebas realizadas se llevaron a cabo a pequeña escala, este enfoque tiene el potencial de expandirse a niveles industriales. De lograrse, podría contribuir significativamente a la reducción del impacto ambiental, la generación de productos innovadores y el desarrollo de nuevos derivados. Esta investigación representa un punto de partida prometedor, con posibilidades de alcanzar resultados importantes en un futuro más amplio.

3.2.1 Materiales y Equipos para extracción de aceite unicelular

En la tabla 2 se muestra los materiales e insumos utilizados durante todo el proceso de extracción de lípidos en sus diferentes fases.

Tabla 2*Insumos y materiales utilizados en el trabajo de investigación*

Insumos	Materiales
1L de suero de queso fresco	Placas de Petri
Agar papa dextrosa	Botellas para esterilización
Levadura	Vasos de precipitado
Glucosa	Hisopos de laboratorio
	Asa bacteriológica
	Matraz de Erlenmeyer
	Pipeta graduada
	Soporte universal

Los equipos utilizados se muestran en la tabla 3, incluyendo sus modelos, con el fin de garantizar la replicabilidad de este estudio experimental. Los insumos, materiales y equipos fueron dotados por el laboratorio de la carrera de Agroindustria.

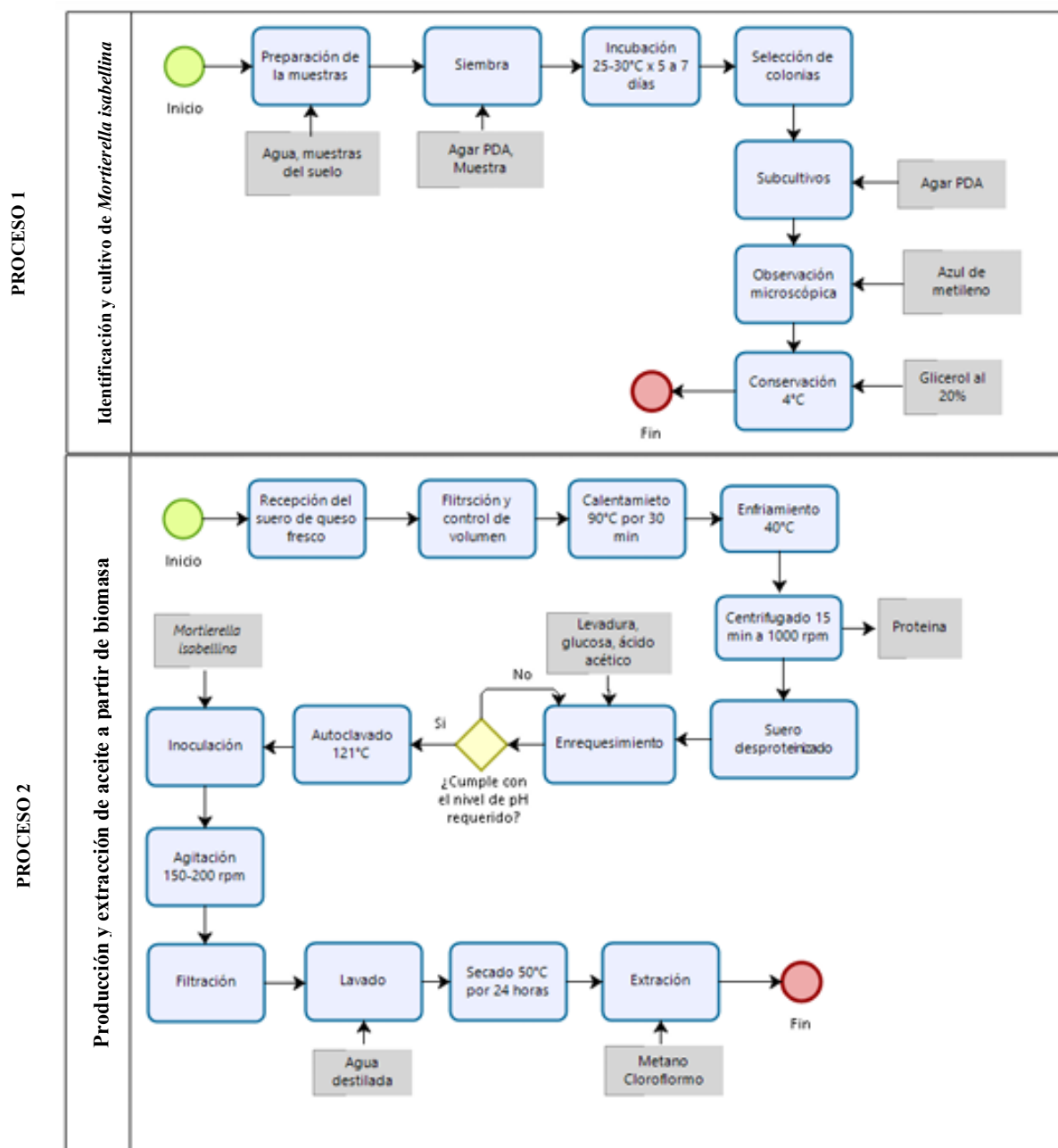
Tabla 3*Equipos utilizados en el trabajo de investigación*

Equipos	Modelo
Autoclave	Tuttnauer autoclave 2540 EK
Cabinas de flujo laminar	PCR PCR800 PC1000 PCR1200 PCR1300 PCR1500
Microscopio	DM-126
Incubadoras para Microbiología	Memmert Unb 200
Analizador de leche	MILKOTESTER – Master ECO
Balanza analítica	MA-P serie
Cocineta de laboratorio	Tekno
Mufla	FB1310M
Centrífuga	SuperVario-N
Refrigerador	MBWH-11W
pH-metro - potenciómetro	sensION3-ELICROM
Agitador magnético	B0BKW4WVZ5

3.2.2 Diagrama de flujo para la extracción de aceite unicelular

En la figura 1 se observan los dos procesos realizados para la obtención del aceite unicelular. El proceso 1 muestra el flujo de trabajo seguido para la identificación y cultivo del microorganismo *Mortierella isabellina*. Mientras que el proceso 2 muestra el flujo de trabajo seguido para el cultivo de la *Mortierella isabellina* en colonias puras utilizando el suero como sustrato para el crecimiento de una biomasa y finalmente la extracción del aceite.

Figura 1
Flujograma de procesos metodológicos



3.2.3 Procedimiento de la extracción de aceite unicelular

El proceso de obtención de aceite unicelular utilizando suero de queso fresco como sustrato se estructuró en cuatro fases distintas. Esta metodología sistemática permitió un aprovechamiento eficiente del subproducto lácteo para la producción de aceites microbianos de interés industrial.

3.2.4 Fase 1: Aislamiento y purificación de *Mortierella isabellina*

Recolección de muestras: Se eligieron tres sitios para la obtención de muestras. Se recolectaron especímenes de suelos que contenían residuos de cultivos. Cada muestra

recolectada tenía un peso aproximado de 1 gramo. Las condiciones de toma de las muestras fueron las siguientes:

- Se identificaron áreas de poscosecha.
- Se verificó que el suelo estuviera húmedo.
- El suelo debía contener desechos orgánicos como hojas y tallos.
- La muestra se recolectó con paletas de madera y se almacenó en fundas herméticas.

Inoculación de muestras: Se procesó 1 gramo de la muestra de suelo triturándolo y suspendiéndolo en 9 mL de agua destilada estéril. La inoculación se realizó utilizando un hisopo estéril, con el cual se tomó la muestra y se aplicó suavemente sobre la superficie del agar. Con el fin de lograr una distribución uniforme de la muestra, se deslizó el hisopo de lado a lado en un patrón de zigzag.

Incubación de muestras: Las placas se incubaron a una temperatura entre 25 y 30 °C por un periodo corto de 7 días. Durante este tiempo, se realizó observaciones diarias para supervisar el desarrollo de colonias en el medio de cultivo.

Selección de colonias: Las colonias seleccionadas guardaban semejanzas a *Mortierella isabelina*, la selección se realizó mediante observación visual, utilizando como referencia una imagen del microorganismo cultivado en una placa de PDA. Se buscó que estos cultivos tuvieran características específicas como: colonias de aspecto algodonoso, color blanco a gris, apariencia filamentosa.

Transferencia a Medio Purificado: Una vez seleccionadas las colonias identificadas como *Mortierella isabelina* se procedió a realizar un proceso de incubación. Para ello, se utilizó un asa bacteriológica estéril para transferir la colonia previamente seleccionada a una nueva placa con agar PDA. Con el objetivo de obtener colonias aisladas se usó la técnica de siembra por estriado. Se verificó que las colonias obtenidas fueran puras, sin presencia de otros microorganismos, y que se hayan aislado como colonias individuales bien definidas.

Observación Microscópica: Se tomó una muestra de una colonia pura del hongo y se transfirió a un portaobjetos. Luego, se aplicó una gota de colorante azul de metileno sobre la muestra para mejorar su visibilidad bajo el microscopio. Finalmente, se cubrió la preparación con un cubreobjetos. Se utilizó un microscopio con un objetivo de 40x para examinar las características morfológicas del hongo.

Las principales características identificadas fueron:

- Hifas: Se confirmó que existe presencia de hifas cenocíticas (no septadas) y ramificadas, típicas del género *Mortierella*.

- **Esporangios:** Se observaron esporangios de forma esférica, conteniendo numerosas esporas.
- **Esporas:** Se identificaron esporas de forma elipsoidal a ovoide, caracterizadas por su tamaño pequeño y paredes lisas.

Conservación: Las cepas puras se conservaron a una temperatura de 4 °C, preparadas como esporas stock en una solución de glicerol al 20 % en forma de esporas stock, garantizando su viabilidad y almacenamiento a largo plazo.

3.2.5 Fase 2: Análisis del suero antes y después de la desproteínización

Recepción de la materia prima: El suero de quesería (1L) fue recolectado de la empresa Productora de Alimentos "San Salvador", situada en la ciudad de Riobamba. La muestra se almacenó en recipientes esterilizados y se transportó en una hielera portátil a 4 °C al laboratorio de la carrera de Agroindustria. Ya en el laboratorio, se realizó el filtrado del suero utilizando un colador para eliminar impurezas, dejando la muestra lista para continuar el proceso.

Preparación de la muestra: Se calentó la muestra hasta alcanzar una temperatura aproximada de 20 °C y se mezcló mediante una agitación suave logrando una homogeneidad completa, asegurándose de evitar la separación de la grasa durante el proceso.

Procedimiento para análisis fisicoquímicos de la muestra: El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera. Cabe destacar que todos los análisis fueron realizados por triplicado, con el objetivo de corroborar los datos obtenidos.

Determinar parámetros del suero de queso: Se evaluaron los parámetros de sólidos totales, grasas, proteínas y lactosa utilizando el analizador de leche "Master ECO".

Determinar del pH del suero de queso: La determinación del pH se realizó mediante potenciometría, utilizando un pH-metro. Este equipo mide la acidez o alcalinidad de la muestra basándose en la actividad de los iones de hidrógeno presentes.

Análisis de acidez titulable del suero de queso: La acidez del suero se determinó y se expresó en porcentaje de ácido láctico. Este análisis se llevó a cabo mediante una valoración con una solución estandarizada de NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína como indicador, según lo establecido en la norma NTE INEN 13:1984.

Análisis de cenizas de materia inorgánica del suero de queso: El contenido de cenizas, correspondiente a la materia inorgánica de la muestra, se determinó mediante el método gravimétrico. Este proceso consistió en obtener las cenizas por la diferencia de pesos tras la incineración de los sólidos totales de la muestra, siguiendo lo establecido en la norma NTE INEN 14:1973.

Desproteínización del suero de queso

Tratamiento térmico: Se precipitó la proteína contenida en el sustrato calentando el suero de quesería a una temperatura de 90 °C durante 30 minutos, hasta lograr la precipitación total de la proteína.

Centrifugado: Se dejó reposar el suero de quesería durante aproximadamente 15 minutos, hasta que alcanzó una temperatura de 40 °C. Una vez frío el suero de quesería, fue centrifugado durante 15 minutos a 1 000 rpm, esto para lograr la separación de las proteínas presentes en el suero. Se procedió a separar el precipitado de la muestra con una pipeta, asegurando una desproteínización eficiente.

Análisis fisicoquímicos del suero de quesería desproteínizado: A la muestra desproteínizada, se procedió a realizar el análisis fisicoquímico, utilizando el mismo procedimiento que se aplicó para el suero de queso.

- Determinar de parámetros del suero de queso desproteínizado (sólidos totales, grasas, proteínas y lactosa).
- Determinar del pH del suero de queso desproteínizado.
- Análisis de acidez titulable del suero de queso desproteínizado.
- Análisis de cenizas de materia inorgánica del suero de queso desproteínizado.

3.2.6 Fase 3: Obtención de aceite unicelular

Para llevar a cabo este procedimiento, se dividió la muestra de 700 mL de suero de queso desproteínizado en cuatro erlenmeyer de 250 mL, cada uno con 100 mL de suero. Cabe destacar que, debido al proceso de desproteínización, el volumen inicial de 1 L de suero de queso se redujo, por lo que solo se utilizaron 400 mL en el experimento.

Enriquecimiento del suero de queso desproteínizado

Ajuste del Carbono y Nitrógeno: Se utilizaron diferentes concentraciones de nitrógeno (levadura) y carbono (glucosa) en los cuatro recipientes de erlenmeyer para evaluar cuál de estas concentraciones proporciona el mejor rendimiento.

Cada frasco lleva distinta concentración de fuente de energía, es decir en el frasco 1 etiquetado con TG1 tiene una concentración específica de nitrógeno y carbono, que se puede observar en la siguiente tabla. El resto de los frascos, la TG2 Y TG3 tienen la misma lógica, las especificaciones de las concentraciones observan en la tabla 4. El frasco etiquetado con TB0 es el tratamiento control, este frasco se mantiene en condiciones similares al resto de frascos y sirve para comprobar los efectos de los tratamientos.

Tabla 4*Fuentes de energía para enriquecer el suero desproteinizado*

Tratamiento	Fuente de carbono (glucosa) [g]	Fuente de nitrógeno (levadura) [g]
TB0	0	0
TG1	0,108	0,0126
TG2	1	0,15
TG3	2	2

Mezcla y Homogenización: Se mezcló la muestra agitando bien para disolver todos los componentes y distribuir uniformemente los nutrientes añadidos, hasta obtener una mezcla homogénea.

Ajuste del pH y Esterilización: Una vez que la muestra fue mezclada uniformemente, se procedió a ajustar el pH a un rango de 4-5 utilizando ácido acético (CH_3COOH) en una concentración del 1 % v/v, ya que este compuesto, al estar en contacto con el suero de queso, reduce su pH acidificándolo. Este tratamiento facilita el acceso del microorganismo a los azúcares y nutrientes solubles, además de inhibir el crecimiento de microorganismos indeseados y contribuir a la eliminación de ciertas impurezas. Luego, se esterilizó el suero en un autoclave a 121 °C durante 20 minutos para eliminar los microorganismos contaminantes.

Preparación del cultivo inoculante: Se añadió *Mortierella isabellina* a los 3 frascos erlenmeyer que contenían suero esterilizado y enriquecido con distintas concentraciones de fuentes de energía. En los 3 frascos se repitió el mismo proceso de cultivo. Se utilizó una relación inicial de biomasa a sustrato (inóculo) de 1:10. Después se incubó a una temperatura de 30 °C con agitación constante a 150 rpm para asegurar una buena aireación y mezcla. Finalmente se monitorearon regularmente parámetros como pH y temperatura.

Incubación: Se permitió que el cultivo creciera durante 7 días, o hasta alcanzar el crecimiento máximo y la acumulación de lípidos.

Extracción de lípidos: Las células de la *Mortierella isabellina* se recolectaron mediante filtración a través de papel de filtro Whatman Gf/A (7 cm de diámetro) y se lavaron dos veces con 50 mL de agua destilada. Las células húmedas lavadas se secaron en la estufa a aproximadamente 50 °C durante 24 horas, hasta obtener un peso constante. El contenido total de lípidos se determinó utilizando el método de Rodríguez Sánchez (2017). Este proceso se repitió en los 3 frascos. Se dejó secar para obtener la biomasa seca, del frasco TG1 se recolectó 7,01g de biomasa seca, del frasco TG2 se recolectó 4,55 g, y del frasco TG3 se recolectó 6,44 g.

La biomasa seca se pesó en un matraz y se añadió metanol y cloroformo en proporción 2:1, ya que estos solventes facilitan la extracción de los lípidos al romper las membranas celulares y disolver eficazmente los compuestos lipídicos. La mezcla se agitó durante 10

minutos a 5 000 rpm en la plancha de agitación magnética. Luego de este tiempo, se agregaron 12 mL de cloroformo durante dos minutos, seguidos de 12 mL de agua destilada durante dos minutos más.

Posteriormente, el residuo se centrifugó a 3 400 rpm durante 15 minutos y se filtró por gravedad. Las capas inferiores de los tubos centrifugados se lavaron con 15 mL de cloroformo, dejándose volatilizar el extracto para obtener un peso constante, todo este proceso se realizó a temperatura ambiente de 25°-27 ° C. Este proceso se repitió en los 3 frascos, al final de este proceso se obtiene el aceite unicelular.

3.2.7 Fase 4: Cuantificación del aceite unicelular

Para la determinación de la cantidad de lípidos obtenidos de cada frasco, se analizó el porcentaje de lípidos extraídos a partir de su biomasa. Los solventes se dejaron evaporar en tubos cónicos y, posteriormente, se calculó el porcentaje de lípidos extraídos utilizando la siguiente ecuación usada por Rodríguez Sánchez (2017) en su investigación.

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{\text{Peso lípidos} - \text{Peso del tubo}}{\text{Peso biomasa seca}} * 100$$

3.3 Técnicas de Recolección de Datos

Para la recolección de datos, se emplearon técnicas experimentales y analíticas. Las técnicas experimentales fueron dedicadas al cultivo de la *Mortierella isabellina* ya que este microorganismo se obtuvo varios tipos de suelo con materia vegetal en descomposición. Se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas para evaluar el crecimiento del hongo, una vez identificado y cultivado para obtener un cultivo puro.

Se llevaron a cabo cultivos de *Mortierella isabellina* en medios enriquecidos con suero de queso desproteinizado, utilizando diferentes concentraciones de carbono y nitrógeno. La producción de biomasa y lípidos se cuantificó mediante análisis gravimétrico, mientras que la composición química del suero de quesería se determinó mediante análisis fisicoquímicos.

3.4 Población y Muestra

La población de este estudio es el suero de queso fresco de la empresa de alimentos “San Salvador” en la ciudad de Riobamba. La muestra específica utilizada fue 1 L de suero. El volumen de suero empleado fue desproteinizado resultando 700 mL y dividido en diferentes tratamientos experimentales con fuentes de energía como carbono y nitrógeno para evaluar su impacto en la producción de lípidos.

3.5 Procesamiento de Datos

Los datos obtenidos fueron organizados principalmente en tablas para su interpretación. Se datos que se procesaron fueron de las características de la purificación

cultivo de la *Mortierella isabellina*, análisis fisicoquímicos del suero fresco y desproteinizado, biomasa, biomasa seca y cuantificación de los lípidos obtenidos de la biomasa seca. La biomasa se producida fue extraída mediante el método de Bligh y Dyer citado por Vyas & Chhabra (2019) y cuantificada mediante la ecuación gravimétrica.

Se aplicó un análisis comparativo entre las distintas concentraciones de fuente de energía usadas para enriquecer el suero desproteinizado con el objetivo de comparar cual concentración obtuvo mayor rendimiento en la producción de aceite unicelular. El cultivo de la *Mortierella isabellina* con las tres concentraciones se caracterizó una vez obtenida la biomasa los resultados se procesaron en tablas comparativas.

3.6 Método de análisis

Los datos obtenidos en la experimentación fueron analizados en el software estadístico R Studio, aplicando técnicas estadísticas para evaluar el efecto de la fuente de nitrógeno y carbono. Se empleó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $P < 0,05$. Finalmente se realizó el análisis de comparación múltiple que agrupó los tratamientos en tres categorías distintas ($TG3 > TG1 > TG2$), lo que indica que la concentración utilizada en TG3 generó el mayor rendimiento de aceite, seguida de TG1 y, por último, TG2.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Elección e identificación de *Mortierella isabellina*

La elección de *Mortierella isabellina* se basó en sus destacadas características y su capacidad para acumular más del 80 % en forma de lípidos (Mares Ponce de León et al., 2017). Existen investigaciones que hablan sobre su efectividad en la obtención de aceites unicelulares utilizando diversos componentes como sustrato, un ejemplo es la investigación de Seo et al. (2014), los autores evaluaron la capacidad de hongos oleaginosos de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Mortierella* y *Cunninghamella* para producir aceite, destacando a *Mortierella isabellina* NRRL 1757 como una cepa prometedora para este propósito. Además, *Mortierella isabellina* fue seleccionada por su disponibilidad en el entorno, principalmente en diversos tipos de suelos, y por sus características favorables.

Se incubaron 30 colonias de *Mortierella isabellina* en 9 placas de agar PDA. Después de siete días, el microorganismo mostró un crecimiento notable, formando colonias incontables como se muestra en la figura 2. Este periodo se eligió porque el microorganismo madura y llega a su crecimiento límite.

Figura 2

Placas cultivadas durante la incubación de las muestras

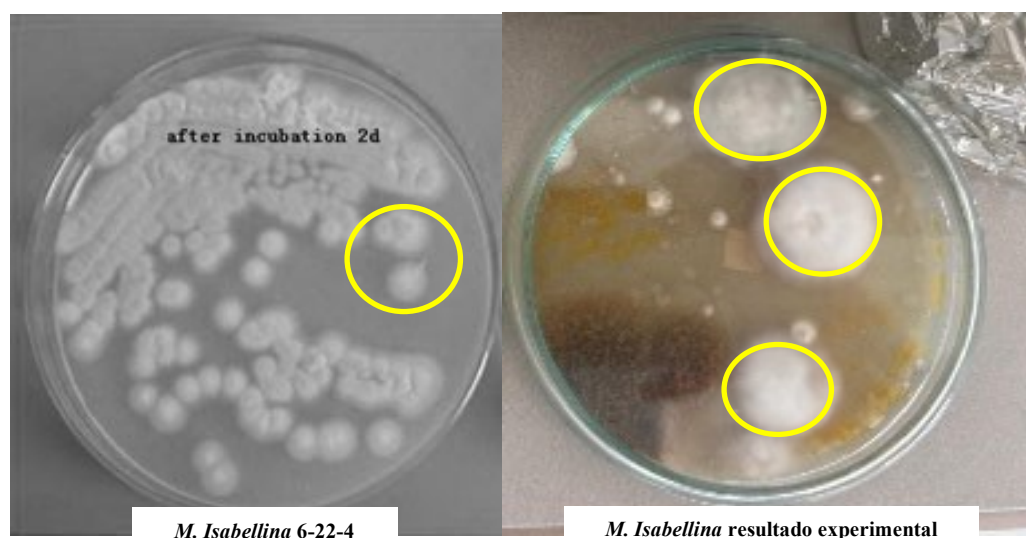


Nota. Se observan varios tipos de hongos en forma, tamaño y color.

Al terminar la duración de crecimiento, se obtuvo un microorganismo de aspecto algodonoso, color blanco a gris, apariencia filamentosa, aspecto similar al obtenido en otras investigaciones como la de Zhang et al. (2007), como se observan en la figura 3.

Figura 3

Cultivo de Mortierella isabellina referencia vs. resultado experimental



Nota. Imagen de referencia obtenido de (Zhang et al., 2007) vs. resultado experimental después del periodo de maduración.

Los cultivos identificados como *Mortierella isabellina* se volvieron a cultivar en un periodo de siete días, esto para obtener un cultivo puro de este microorganismo. El resultado fueron incontables colonias listas para continuar el proceso, en la tabla 5 se describe la evolución del cultivo.

Tabla 5

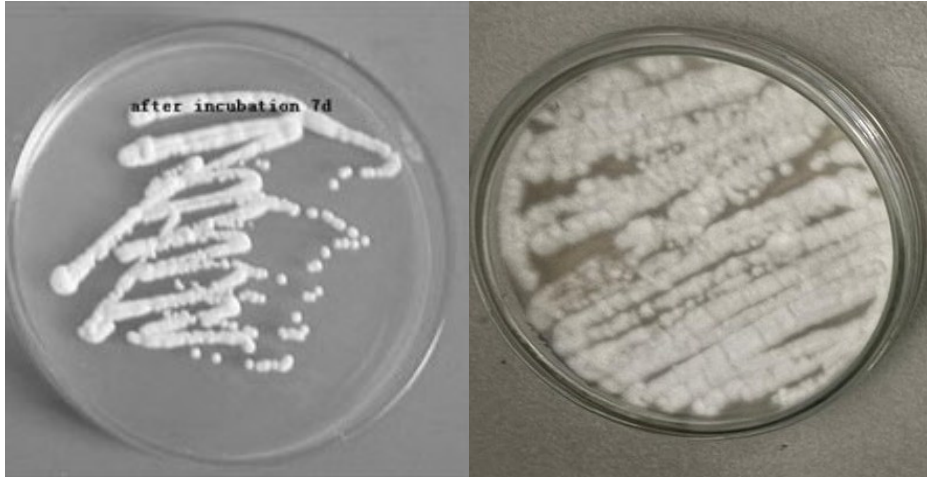
Evolución de la Mortierella isabellina durante la incubación

Día	Observaciones
1	Inicia el crecimiento con formación de pequeñas colonias
2	Las colonias incremento del tamaño
3	Colonias más grandes, comienzan a presentar tonalidades
4	Crecimiento definido con bordes visibles
5	Incremento de tamaño y cambio en la textura
6	Colonias casi maduras, apariencia consistente, densa de color blanco
7	Crecimiento máximo alcanzado, listas para la siguiente fase

En la figura 4 se muestra el resultado del cultivo de las colonias de *Mortierella isabellia* luego del proceso de incubación.

Figura 4

Cultivo de Mortierella isabellina referencia vs. Cultivo puro

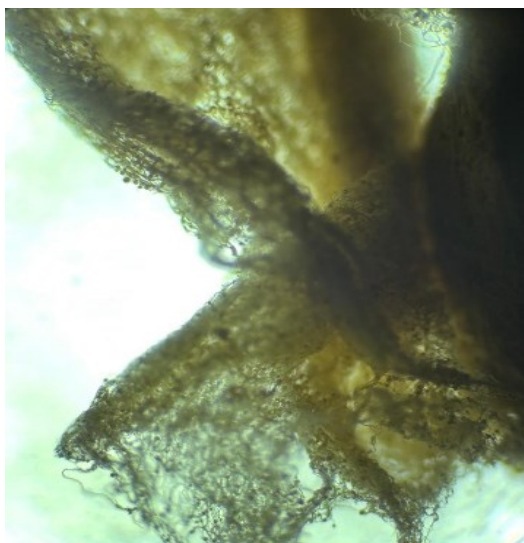


Nota. Cultivo del microorganismo después de 7 días imagen de referencia obtenido de (Zhang et al., 2007) vs. Resultado experimental del cultivo puro de *Mortierella isabellina* después de mismo tiempo incubación.

Se observó el cultivo puro en el microscopio para determinar las características de *Mortierella isabellina* y verificar si coinciden con las descritas en la literatura. La vista microscópica a 40x del cultivo mostró características morfológicas consistentes con las reportadas para *Mortierella isabellina* en la literatura micológica, la vista se muestra en la figura 5.

Figura 5

Vista microscópica de Mortierella isabellina



4.2 Suero de queso fresco desproteinizado y enriquecido

El suero de queso fresco es uno de los subproductos más desperdiciados en la industria láctea. Para esta investigación, se decidió emplear suero desproteinizado, basado en el estudio de Vyas & Chhabra (2019), donde se analizaron las características del suero de queso sin tratar y del suero desproteinizado en diferentes concentraciones y el resultado mostró que el suero desproteinizado obtuvo mejor rendimiento en cuanto a lípidos.

Es por ello, que se realizaron análisis fisicoquímicos del suero de quesería y suero desproteinizado para determinar varios parámetros, como pH, medido con un pH-metro. La acidez titulable, determinada mediante valoración con NaOH 0.1N y fenolftaleína como indicador. Las cenizas, determinadas mediante el método gravimétrico para cuantificar la materia inorgánica. Además, de medir los sólidos totales, grasa, proteína y lactosa: Se utilizó un analizador de leche Master ECO para estos análisis.

En la Tabla 6 se presenta una comparación de los resultados de las características del análisis fisicoquímico del suero fresco y del suero desproteinizado.

Tabla 6

Análisis Físicoquímico del suero fresco y suero desproteinizado

Parámetro Analizado	Suero de Queso Fresco	Suero Desproteinizado
pH	6,26	5,45 después de utilizar CH_3COOH 4,52
Acidez Titulable (%)	0,54	0,58
Cenizas (%)	0,53	0,41
Sólidos totales (%)	7,14	6,02
Grasa (%)	0,04	0,05
Proteína (%)	2,24	0,00
Lactosa (%)	3,32	2,01

El estudio de Taskin et al. (2015) también obtuvo buenos resultados maximizando acumulación de lípidos en la biomasa al usar fuentes de energía como: carbono, nitrógeno y fósforo. Dado que el objetivo principal de esta investigación fue optimizar la biomasa en el cultivo de *Mortierella isabellina*, se desproteinizó el suero para obtener mejores resultados y se enriqueció el suero desproteinizado con fuentes de energía como el carbono (glucosa) y nitrógeno (levadura).

Las concentraciones que se usaron fue TG1 (0,108 g glucosa y 0,0126 g levadura), TG2 (1g glucosa y 0,15g levadura), TG3 (2g glucosa y 2g levadura). Esto para comprobar con que características el suero desproteinizado mejora la cantidad de la biomasa.

Se escogió las concentraciones en base al estudio de Kamoun et al. (2018) quienes estudiaron distintas fuentes de energía para enriquecer la muestra que se utilizaría como sustrato con el mismo propósito de obtener aceite unicelular.

Los autores recomendaban utilizar concentraciones distintas para evaluar los resultados y escoger la concentración más prometedora para este fin. Una vez enriquecido el suero, se procedió a cultivar la *Mortierella isabellina* en esta nueva muestra. Las características más relevantes de los tres cultivos durante el periodo de incubación se muestran la tabla 7. Estas características se toman de la biomasa antes de extraer los lípidos.

Tabla 7

Características de la biomasa después del periodo de cultivo

Parámetro Analizado	TG1	TG2	TG3	TB0
Biomasa producida (g/mL)	12,7	7	9,75	5
pH	3,67	3,77	4	4
Temperatura (°C)	25-30	25-30	25-30	25-30
Olor	fermentación	fermentación	fermentación	Descomposición
Color	Amarillo claro	Gris amarillento	Café amarillento	Amarillo claro

El enriquecimiento del sustrato mejora el rendimiento en la producción de biomasa. La investigación de Taskin et al. (2015) utilizó *Yarrowia lipolytica* B9 para el cultivo en 1 L de suero de leche desproteinizado no estéril, obteniendo una concentración de biomasa de 7,4 g/L, mientras que el estudio de Braz et al. (2020) obtuvo una concentración de biomasa de 4,7 g/L utilizando 1L de suero de queso crudo como sustrato para el hongo filamentoso *Mucor circinelloides* URM 4182. En comparación, en esta investigación, *Mortierella isabellina* fue cultivada en 100 mL de suero enriquecido, logrando un rendimiento significativamente superior con 12,7 g/mL en la mejor concentración.

4.3 Biomasa seca obtenida del suero desproteinizado como sustrato

Se utilizó el método de Bligh y Dyer, citado por Vyas & Chhabra (2019), para extraer los lípidos de la biomasa obtenida del cultivo de *Mortierella isabellina* en el sustrato. De manera similar Akpinar Bayizit et al. (2014), emplearon una metodología comparable. La biomasa se separó por filtración al vacío, se lavó, secó y posteriormente se sometió a extracción lipídica con cloroformo/metanol.

Este método también fue recomendado por la investigación de Rodríguez Sánchez (2017). Finalmente, se obtuvo una biomasa seca, de la cual se extrajo el aceite unicelular, que fue cuantificado y expresado en porcentaje.

La biomasa seca obtenida de la concentración TG1 fue de 7,01 g, de la concentración TG2 4,55 g, de la concentración TG3 6,44 g y de la concentración TB0 2,20 g. Los resultados mostraron que la TG1 obtuvo mayor rendimiento en biomasa seca, esto no quiere decir que esta concentración es la más adecuada, ya que al extraer los lípidos con los solventes

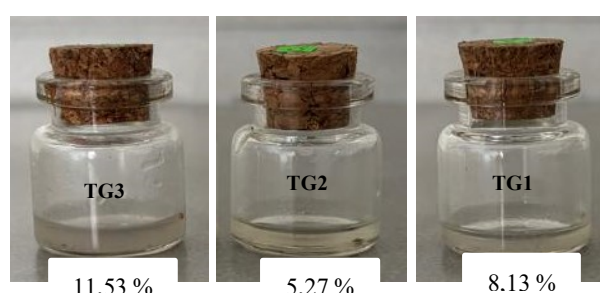
otras concentraciones separaban más lípidos. Es decir, que la calidad de la biomasa no se mide con cantidad sino por la cualidad de producir más lípidos en su estructura orgánica.

4.4 Cuantificación del aceite unicelular

Según el análisis gravimétrico, los resultados obtenidos para la cuantificación de aceite fueron los siguientes: TG1 8,13 %, TG2 5,27 % y TG3 11,53 %, del tratamiento control TB0 no se pudo extraer lípidos ya que la cantidad producida fue mínima. Esto indica que la mejor concentración en términos de producción de aceite fue TG3, la cual presentó el mayor rendimiento lipídico, como se observa en la figura 6.

Figura 6

Aceite extraído de biomasa seca



Específicamente, en el tratamiento TG3, a partir de 100 mL de suero desproteinizado y enriquecido con 2 g de carbono y 2 g de nitrógeno, generó una biomasa total de 9,75 g, de la cual 6,44 g correspondieron a biomasa seca, obteniéndose así un rendimiento final de 11,53 % de aceite unicelular. Esta es la concentración con más porcentaje de lípidos y la que mostró mejor rendimiento en la obtención de aceite unicelular.

En la tabla 8 se presentan los resultados detallados de la cuantificación de aceite en las tres concentraciones analizadas.

Tabla 8

Cuantificación de aceite unicelular de las tres concentraciones

Concentración	Peso lípidos (g)	Peso tubo (g)	Peso biomasa seca (g)	Porcentaje de lípidos %
TG1	6,75	6,18	7,01	8,13
TG2	6,41	6,17	4,55	5,27
TG3	6,88	6,15	6,44	11,53

El tratamiento TG3 fue el que obtuvo mejores resultados, debido a que las concentraciones de energía contribuyeron a enriquecer el suero de leche como sustrato. Además, este fue desproteinizado para evitar que las proteínas interfirieran con el crecimiento del microorganismo y afectaran la calidad del aceite. Estos procedimientos también lo utilizaron Taskin et al. (2015) en su investigación, obteniendo un contenido lipídico del 58 %. Además, la investigación de Taskin et al. (2015) utilizó *Yarrowia*

lipolytica B9 para el cultivo en 1 L de suero de leche desproteínizado no estéril, obteniendo una concentración de lípidos de 4,29 g/L.

Investigaciones como Herrero & Álvarez (2016) obtuvieron resultados similares en cuanto a la biomasa, ya que del suero de queso sometido a hidrólisis ácida con ácido trifluoroacético como sustrato para el cultivo de las cepas *Rhodococcus opacus* (PD630 y MR22), obtuvieron rendimientos de biomasa de entre 6,1 y 6,3 g/L.

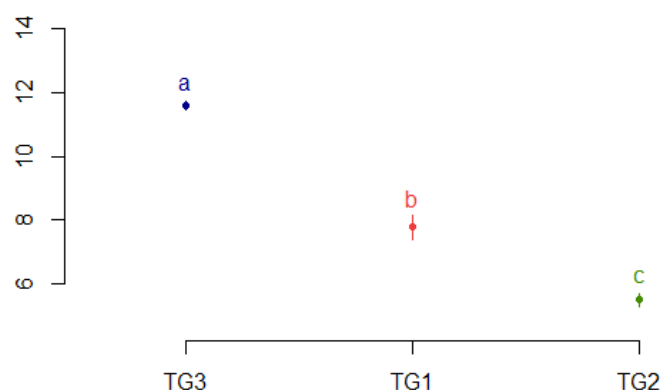
Mientras que el estudio de Braz et al. (2020) obtuvo un 22,5 % de contenido lipídico en peso seco, utilizando 1L de suero de queso crudo como sustrato para el hongo filamentoso *Mucor circinelloides* URM 4182. En comparación, en este estudio, *Mortierella isabellina* fue cultivada en 100 mL de suero enriquecido, alcanzando un rendimiento significativamente superior, con un contenido lipídico del 11,53 % en la mejor concentración.

Según el gráfico de medias, el tratamiento TG3 obtuvo el mayor rendimiento de aceite unicelular, alcanzando un 11,53 %. Este tratamiento contenía una concentración de 2 g de carbono y 2 g de nitrógeno. En segundo lugar, se ubicó el tratamiento TG1, con un rendimiento del 8,13 %, utilizando 0,108 g de carbono y 0,0126 g de nitrógeno. Finalmente, el tratamiento TG2 presentó el menor rendimiento, con un 5,27 %, empleando 1 g de carbono y 0,15 g de nitrógeno.

Estos resultados indican que la concentración utilizada en TG3 fue la más efectiva para la producción de aceite unicelular como se observa en la figura 7. El enriquecimiento del sustrato con carbono y nitrógeno en las mismas cantidades favoreció la acumulación de lípidos en la biomasa de *Mortierella isabellina*.

Figura 7

Gráfica de medias del rendimiento de aceite unicelular



CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

A partir de muestras de suelo con materia vegetal en descomposición, se logró aislar el microorganismo oleaginoso *Mortierella isabellina*. Inicialmente, se cultivaron diversas cepas de microorganismos y, tras su identificación, *M. isabellina* fue seleccionada y cultivada, obteniendo múltiples colonias puras. Se concluye que este microorganismo puede obtenerse directamente del entorno, lo que facilita su uso y reduce los costos asociados a su adquisición en laboratorio.

Se comparo las características fisicoquímicas del suero sin tratar con el suero desproteinizado, esto para verificar las propiedades que tiene cada muestra, dando como resultado que el permeado de suero mejora su rendimiento como sustrato. Ya que al eliminar las proteínas que pueden interferir con el crecimiento y desarrollo del microorganismo *Mortierella isabellina*, se mejora el rendimiento de biomasa obtenido.

Un método eficiente para mejorar la producción de biomasa es el enriquecimiento del sustrato. En este estudio, se evaluaron tres concentraciones diferentes utilizando glucosa y levadura como fuentes de energía. Los resultados demostraron que el enriquecimiento del suero mejora significativamente el rendimiento de biomasa en comparación con estudios que utilizaron suero sin enriquecer. Este método optimiza la disponibilidad de nutrientes y favorece el crecimiento del microorganismo ya que cuenta con los requerimientos necesarios para su crecimiento ayudando a obtener mayor volumen de biomasa con alto contenido de lípidos. Esto también se evidenció en el tratamiento TB0, el cual no logró producir lípidos de forma significativa debido a la ausencia de una fuente de energía.

Se obtuvo un rendimiento del 11,56 % de lípidos a partir de 100 mL de suero de leche en la concentración TG3, demostrando que *Mortierella isabellina* puede producir cantidades significativas de aceite unicelular utilizando suero de queso fresco desproteinizado y enriquecido con fuentes de carbono y nitrógeno. Mediante análisis gravimétrico, se cuantifico el rendimiento de biomasa seca tras el cultivo y extrayendo el aceite, cuyo potencial destaca por su bajo costo y escalabilidad industrial.

Este aceite no solo representa una alternativa prometedora para la formulación de nuevos alimentos, sino también para la industria cosmética, farmacéutica y de biocombustibles, contribuyendo a la valorización del suero de queso y a la reducción de su impacto ambiental.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio de cromatografía del aceite unicelular obtenido de *Mortierella isabellina* usando suero de queso como sustrato, con el fin de determinar su uso más eficaz. Otras investigaciones han señalado diversas aplicaciones, como en la producción de biodiésel, farmacéutica, cosmética y para formulas alimenticias.
- Se recomienda obtener cepas puras de *Mortierella isabellina* para verificar su capacidad de producción de aceite. En esta investigación se utilizaron cultivos potenciales de *Mortierella isabellina*, por lo que podría existir algún factor que influya en los resultados.
- Es recomendable utilizar 1L de suero de queso fresco desproteinizado y enriquecido por cada concentración, ya que esto permite obtener un mayor rendimiento en la producción de biomasa, por ende, mayor producción de aceite unicelular. Además, una muestra de este volumen garantiza que los resultados sean representativos y estadísticamente más significativos.
- Se recomienda replicar esta investigación utilizando otros tipos de suero de quesería, como el suero de queso mozzarella o suero ácido, con el fin de evaluar su viabilidad como sustrato para la producción de biomasa y lípidos mediante el cultivo de *Mortierella isabellina*. Esto permitiría comparar rendimientos, composición y eficiencia del proceso, ampliando las posibilidades de aprovechamiento de residuos lácteos con diferentes características fisicoquímicas

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, S., Enríquez Estrella, M., & Uvidia Cabadiana, H. (2022). Residuos agroindustriales: su impacto, manejo y aprovechamiento. *AXIOMA*, 1(27), 5–11. <https://doi.org/10.26621/ra.v1i27.803>
- Akpınar Bayızit, A., Özcan, T., Yılmaz Ersan, L., & Basoglu, F. (2014). Single cell oil (SCO) production by *Fusarium* species using cheese whey as a substrate. *Mljekarstvo*, 64(2), 111–118. https://www.researchgate.net/publication/287262169_Single_cell_oil_SCO_production_by_Fusarium_species_using_cheese_whey_as_a_substrate
- Akpınar Bayızit, A., Özcan, T., Yılmaz Ersan, L., & Basoglu, F. (2016). A Research on Whey as a Renewable Substrate for Single Cell Oil Production by *Saprolegnia diclina*. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7(1), 56–61. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2016.V7.542>
- Braz, C., Carvalho, A., Bento, H., Reis, C., & De Castro, H. (2020). Producción de metabolitos microbianos de valor añadido: hongo oleaginoso como herramienta para la valorización de subproductos lácteos. *BioEnergy Research*, 13(3), 963–973. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10121-y>
- Calvopiña Toapanta, C., & Manotoa Betancourt, J. (2020). *Obtención de ácido láctico a partir de lactosuero y almidón de papa mediante fermentación láctica* [Tesis de pregrado, UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR]. <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/2cf8cc23-1990-4e9d-8a77-a88f4d588365/content>
- Caporusso, A., Capece, A., & De Bari, I. (2021). Oleaginous Yeasts as Cell Factories for the Sustainable Production of Microbial Lipids by the Valorization of Agri-Food Wastes. *Fermentation*, 7(2), 50. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020050>
- Carota, E., Crognale, S., D'Annibale, A., Gallo, A. M., Stazi, S. R., & Petruccioli, M. (2017). A sustainable use of Ricotta Cheese Whey for microbial biodiesel production. *Science of The Total Environment*, 584–585, 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.068>
- Casas Godoy, L., & Barrera Martínez, I. (2021). *Revalorización de residuos agroindustriales: Caso Jalisco*. Centro Público de Investigación de La Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación [CIATEJ] MEXICO.

- <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Revalorizacion-de-residuos-agroindustriales--Caso-Jalisco/194>
- Centro de la Industria Láctea [CIL] Ecuador. (2024, February 6). *Entre 2022 y 2023 el consumo de lácteos en Ecuador cayó un 12 %*. Centro de La Industria Láctea (CIL) Ecuador. <https://www.cil-ecuador.org/post/entre-2022-y-2023-el-consumo-de-l%C3%A1cteos-en-ecuador-cay%C3%B3-un-12>
- Chan, L., Cohen, J., Ozturk, G., Hennebelle, M., Taha, A., & Moura Bell, J. M. (2018). Bioconversion of cheese whey permeate into fungal oil by *Mucor circinelloides*. *Journal of Biological Engineering*, 12(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s13036-018-0116-5>
- Chaparro, G. (2017). *Evaluación del suero lácteo en la producción de biomasa y lípidos en la microalga Chlorella vulgaris a escala de laboratorio* [FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA]. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6585/1/6122832-2017-2-IQ.pdf>
- Chen, H.-G., & Zhang, Y.-H. P. (2015). New biorefineries and sustainable agriculture: Increased food, biofuels, and ecosystem security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47, 117–132. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.048>
- Cossio Colque, Y., & Chipana Mendoza, G. (2022). Aprovechamiento industrial del suero lácteo. *Revista Estudiantil En Producción, Transformación y Comercialización Agropecuaria*, 1(2), 43–101. <https://cipycos.umsa.bo/index.php/1/article/view/15/15>
- Díaz Aguilar, R. de J., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Espinoza Ahumada, C. A., & Velarde-Felix, S. (2022). Primer reporte de *Mortierella* sp. en el cultivo de Chile en Tamaulipas, México. *Scientia Fungorum*, 53, e1412. <https://doi.org/10.33885/sf.2022.53.1412>
- Faife Pérez, E., Otero Rambla, M. A., & Alvarez Delgado, A. (2012). Producción de biodiesel a partir de microorganismos oleaginosos. Una fuente de energía renovable. Una fuente de energía renovable. Parte I. Levaduras y bacterias. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 46(1), 22–32. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223123848004.pdf>
- Gardeli, C., Athenaki, M., Xenopoulos, E., Mallouchos, A., Koutinas, A. A., Aggelis, G., & Papanikolaou, S. (2017). Lipid production and characterization by *Mortierella (Umbelopsis) isabellina* cultivated on lignocellulosic sugars. *Journal of Applied Microbiology*, 123(6), 1461–1477. <https://doi.org/10.1111/jam.13587>

- Herrero, M., & Álvarez, H. M. (2016). Whey as a renewable source for lipid production by *Rhodococcus* strains: Physiology and genomics of lactose and galactose utilization. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(2), 262–272. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500080>
- Kamoun, O., Ayadi, I., Guerfali, M., Belghith, H., Gargouri, A., & Trigui-Lahiani, H. (2018). *Fusarium verticillioides* as a single-cell oil source for biodiesel production and dietary supplements. *Process Safety and Environmental Protection*, 118, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.06.027>
- Lema Guamán, J. (2023). *Aprovechamiento del suero de la leche para la obtención de ácido láctico* [Tesis de pregrado, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO]. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/10593/1/Lema%20Jaime%20%282023%29%20Aprovechamiento%20del%20suero%20de%20la%20leche%20para%20la%20obtenci%C3%B3n%20de%20%C3%A1cido%20l%C3%A1ctico..pdf>
- Mares Ponce de León, Y., Muñoz Castellanos, L. N., Ruiz Cisneros, M. F., Pérez Corral, D. A., Ornelas Paz, J. de J., Acosta Muñiz, C. H., Berlanga Reyes, D. I., & Rios Velasco, C. (2017). Identificación morfológica y molecular de especies de *Mortierella* asociados a rizosfera de manzanos con síntomas de enfermedades radicales. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1710-2>
- Osorio González, C., Sandoval Salas, F., Hernández Rosas, F., Hidalgo Contreras, J., Gómez Merino, F., & Ávalos de la Cruz, D. (2018). Potencial de aprovechamiento del suero de queso en México. *Agroproductividad*, 11(7), 101–106.
- Pais Chanfrau, J. M., Núñez Pérez, J., Lara Fiallos, M. V., Rivera Intriago, L. M., Trujillo Toledo, L. E., & Cuaran Guerrero, M. J. (2017). Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología. *Bionatura*, 2(4), 468–476. <https://doi.org/10.21931/RB/2017.02.04.11>
- Preciado-Saldaña, A. M., Ruiz-Canizales, J., Villegas-Ochoa, M. A., Domínguez Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2022). Aprovechamiento de subproductos de la industria agroalimentaria. Un acercamiento a la economía circular. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 23(2), 92–98. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81373798002>
- Rodríguez Sánchez, A. P. (2017). *Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel* [Tesis de Pregrado]. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE CUENCA.

- Sallet, D. (2017). *Extracción de ácidos grasos producidos por Mortierella isabellina mediante fluido supercrítico y ultrasonidos* [Tesis de Máster, Universidade Federal de Santa Maria].
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/17883/DIS_PPGEQ_2017_SALLET_DANIELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Seo, Y. H., Lee, I., Jeon, S. H., & Han, J.-I. (2014). Conversión eficiente de suero de queso a lípidos utilizando *Cryptococcus curvatus*. *Biochemical Engineering Journal*, 90, 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.05.018>
- Taskin, M., Saghaian, A., Aydogan, M. N., & Arslan, N. P. (2015). Producción microbiana de lípidos por la levadura oleaginoso *Yarrowia lipolytica* B9 adaptada al frío en medio de suero no estéril. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 9(5), 595–605. <https://doi.org/10.1002/bbb.1560>
- Urtasun, N., Hirsch, D. B., Baieli, M. F., Miranda, M. V, Cascone, O., & Wolman, F. J. (2018). Valorización del suero de queso. un desafío para la cromatografía a escala industrial. *Revista Farmacèutica*, 160, 47–61. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/86987/CONICET_Digital_Nro.e31f29ad-f5ca-44c4-9b77-22d3b0906cdd_A.pdf?sequence=2
- Vainio, H., Sipponen, M., Laakso, S., Pastinen, O., Lehtomäki, I., Koskinen, P., & Laamanen, M. (2019). *Método para producir aceite unicelular a partir de materiales lignocelulósicos* (Patent ES 2 719 116 T3). <https://patentimages.storage.googleapis.com/e7/c0/b6/51522948e94766/ES2719116T3.pdf>
- Vyas, S., & Chhabra, M. (2019). Assessing oil accumulation in the oleaginous yeast *Cystobasidium oligophagum* JRC1 using dairy waste cheese whey as a substrate. *3 Biotech*, 9(5), 173. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1701-0>
- Zambrano, D., & López, E. (2018). La Industria de Lácteos de Riobamba – Ecuador: Dinámicas en la Economía Local. *Economía y Negocios*, 9(1), 93–101. <https://doi.org/10.29019/eyn.v9i1.441>
- Zhang, X., Li, M., Wei, D., Wang, X., Chen, X., & Xing, L. (2007). Disruption of the Fatty Acid Δ^6 -Desaturase Gene in the Oil-Producing Fungus *Mortierella isabellina* by Homologous Recombination. *Current Microbiology*, 55, 128–134. <https://doi.org/10.1007/s00284-006-0641-1>

Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., & Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(7), 2749–2764. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>

ANEXOS

*Ilustración 1. Transferencia de cultivos identificada como *Mortierella isabelina**



Ilustración 2. Análisis del suero de queso fresco utilizando Master ECO



Ilustración 3. Análisis del pH del suero de queso fresco



Ilustración 4. Acidez volumétrica del suero de queso

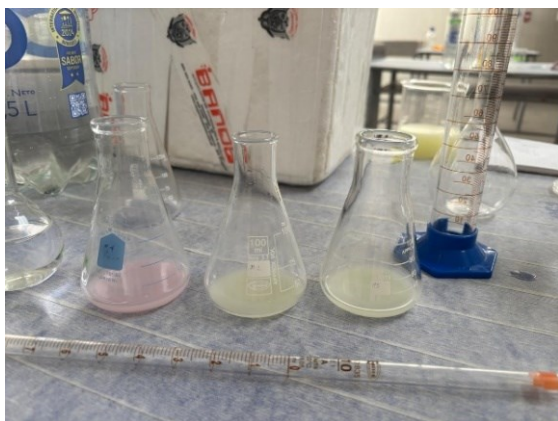


Ilustración 5. Cenizas de materia inorgánica del suero de queso



Ilustración 6. Precipitación de la muestra a 90 °C



Ilustración 7. Centrifugado de la muestra para la separación de la proteína del suero



Ilustración 8. Suero desproteinizado después del centrifugado

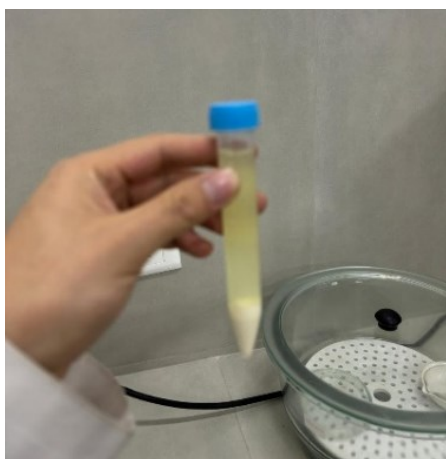


Ilustración 9. Muestras de suero desproteinizado después del enriquecimiento



Ilustración 10. Esterilización de suero desproteinizado enriquecido en el autoclave



Ilustración 11. Incubación de *Mortierella isabellina* en el suero enriquecido

