

Área: Ciencias Ambientales, Agroindustrias y de la Tierra

Comunicaciones de Investigadores: Actualización en viticultura, enología y subproductos vitivinícola

Determinación de la Cinética de crecimiento de *Rhizopus oryzae* NCIM 1299 usando escobajo de uva en experimentos de membrana

Determination of Growth Kinetics of *Rhizopus oryzae* NCIM 1299 using Grape Stems as substrate in membrane experiments

Groff, María Carla¹; Scaglia, Gustavo Juan Eduardo²; Gaido, Marta³; Kassuha, Diego Enrique¹; Ortiz, Oscar Alberto² y Noriega, Sandra Edith¹

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias Químicas y Tecnológicas, Universidad Católica de Cuyo, San Juan, Argentina.

²Instituto de Ingeniería Química, Universidad Nacional de San Juan, San Juan, Argentina.

³Laboratorio de Control de Calidad Dr. Alberto Graffigna, Universidad Católica de Cuyo, San Juan, Argentina.

Contacto: mcgroff@uccuyo.edu.ar

Palabras clave: Escobajo de uva; *R. oryzae*; Ácido láctico

Key Words: Grape stalk; *R. oryzae*; Lactic acid

En San Juan se obtienen alrededor de 30.000 toneladas/año de escobajo de uva (EU), un residuo sólido generado en el despalillado del proceso de vinificación, atrayendo roedores/insectos, emanando mal olor y peligro de incendio. Su destino es la dispersión sobre viñedos o la incineración. Una alternativa para revalorizarlo sería usarlo como sustrato en fermentaciones en donde los desechos se inoculan con microorganismos, obteniendo metabolitos de interés. El ácido láctico (AL) se usa en las industrias alimentaria, cosmética/farmacéutica y química, con una demanda mundial de 1.220 kiloton. (2016). El AL se obtiene por síntesis biotecnológica, usando materias primas sin valor, aplicando baja temperatura de proceso, consumiendo poca energía y obteniendo AL de alta pureza, siendo la fermentación bacteriana la más usada a escala industrial. Una alternativa superadora sería el uso de hongos, ya que poseen enzimas que degradan estructuras lignocelulósicas, tienen bajos requisitos nutricionales y producen el enantiómero puro L(+)-AL. Se propone al EU como sustrato de la fermentación con *R.oryzae* NCIM1299 para obtener AL y conocer la cinética de crecimiento. Los pasos fueron: 1). Muestreo de EU Cereza y acondicionamiento (secado, trituración y tamizado); 2). Caracterización físicoquímica del EU; 3). Siembra de *R.oryzae* NCIM1299 (1x10⁶ esporas/gglucosa) en un sistema de crecimiento sobre membrana (Nylon, 0.2um) con APD (agar papa dextrosa) y Agar+EU (250um<?<350um y 0.05gEU/ml medio) a 30°C, 50%HR por 5 días en incubadora; 4). Muestreo cada 12hs por duplicado; 5). Cuantificación de biomasa seca (Método gravimétrico); 6).a). Obtención de glucosamina de la biomasa seca en dos etapas de hidrólisis con H₂SO₄, neutralización y centrifugación (el sobrenadante se usa para cuantificar

glucosamina). b). Cuantificación de glucosamina: método espectrofotométrico con acetilacetona y Reactivo de Ehrlich (530nm); 7). Determinación de la cinética de crecimiento (Software MatlabR2015a). Los resultados fueron: 2). EU: Cenizas=6.43%; Extractivos: agua=19.62% y etanol=7.76%; Lignina Klason=38.61%; Holocelulosa=49.10%; Azúcares Reductores=54.07%; Nitrógeno Total=0.95% y Polifenoles Totales=2.19mg/100gEUseco. La estructura lignocelulósica del EU es similar a otros sustratos usados en fermentaciones de estado sólido (FES). El resultado tan alto de azúcares reductores es erróneo, porque el ácido 3,5dinitrosalicílico (DNS) reacciona con compuestos que tienen grupos carbonilos libres, al ser el EU heterogéneo, existirán otros compuestos que reaccionarán con el DNS, generando lecturas erróneas por exceso. Especulamos la presencia de hidroximetilfurfural como interferente. 6)b). Glucosamina: se obtuvieron las siguientes correlaciones: mgGlucosamina/ gbiomasaseca(t)=0.5483(t)+292.3(APD) y mgGlucosamina/gbiomasaseca(t)=0.2435(t)+82.74(Agar+EU), que podrán aplicarse en el bioproceso de FES. 7).Cinética: los modelos testeados fueron: APD: Logístico (R²=98.76%), Primer Orden (R²=91.64%) y Primer Orden con Retardo (R²=97.04%); Agar+EU: Logístico (R²=97.35%) y Primer Orden (R²=95.80%). En la FES con EU podrá utilizarse el modelo de Primer Orden porque es más sencillo de manipular matemáticamente. La concentración máxima de biomasa seca (X_{max}) fue 0.47gbiomasaseca/gglucosa(APD) y 0.08gbiomasaseca/gEUseco(Agar+EU). Concluimos que el EU tiene gran potencial como sustrato en FES fúngica al omitirse la etapa de pretratamiento hidrolítico y el contenido de polifenoles del EU no obstaculizó el bioproceso.