

PRODUCCIÓ DE PROTEÏNA DESTINADA A L'ALIMENTACIÓ ANIMAL A PARTIR DE MICROORGANISMES

MICROORGANISM-BASED PRODUCTION OF PROTEINS FOR ANIMAL CONSUMPTION

M. ÀNGELS CALVO TORRAS
Universitat Autònoma de Barcelona i Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya

JOSEP LLUPIÀ I MAS
Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya

ESTEBAN LEONARDO AROSEMENA ANGULO
Universitat Autònoma de Barcelona

RESUM

S'aporten de forma resumida les bases o condicions de la producció i l'obtenció de proteïna a partir del desenvolupament de microorganismes, i se n'indiquen els avantatges i desavantatges en relació amb altres metodologies. Així mateix, s'exposen els primers resultats de la recerca que es du a terme per tal de decidir la millor font de proteïna d'origen microbià i les condicions de desenvolupament i obtenció.

ABSTRACT

The conditions of the production of proteins from the development of microorganisms are summarized, discussing its advantages and disadvantages in relation to other methods. The first results of the research are discussed to determine the best source of microbial origin protein and the best conditions for development of microorganisms.

INTRODUCCIÓ

Actualment, un dels problemes més importants amb què s'enfronta el món és la taxa de creixement demogràfic, i, en conseqüència, és molt difícil que l'agricultura convencional aportï una quantitat d'aliment suficient per a una població tan nombrosa.

Per aquest motiu, la recerca de noves fonts de proteïnes ha motivat el desenvolupament de noves tècniques agrícoles, per obtenir cereals amb un elevat contingut proteic, i fins i tot l'extracció de proteïnes a partir d'abocaments líquids mitjançant la ultrafiltració.

Una altra important línia de recerca es basa en la producció i l'obtenció de l'alt contingut de proteïna que pot aportar la biomassa microbiana.

PROTEÏNA UNICEL·LULAR

La capacitat dels microorganismes de créixer en diversos substrats ajuda a generar aquesta biomassa microbiana, coneguda com a *proteïna unicel·lular*, amb el desenvolupament de microorganismes com els bacteris, els llevats, les algues i els fongs, per a la producció d'aliments per als animals i per a l'home.

El nom d'aquesta tècnica, *single cell protein* (SCP, proteïnes d'origen unicel·lular), fa referència a l'estat unicel·lular o filamentós dels microorganismes emprats per a la producció, a diferència de les proteïnes obtingudes a partir d'éssers vius pluricel·lulars, com són les plantes i els animals. Des de fa molt de temps, l'home ja havia reconegut el valor nutritiu de determinats microorganismes, com ara els llevats i determinats fongs filamentosos. Això és conseqüència principalment del temps requerit per duplicar la massa dels microorganismes. Així, podem dir que els bacteris i els llevats dupliquen la massa en un termini de 20 a 120 minuts, a diferència de les plantes de cultiu, que tarden entre 1 i 2 setmanes, o, per exemple, un porc, que tarda de 4 a 6 setmanes. Com a exemple, també podem dir que 1.000 kg de soja produeixen diàriament 10 kg de proteïna, mentre que la producció de proteïna de 1.000 kg de bacteris arriba fins als 100.000 milions de kg diaris.

Avantatges

La producció de proteïnes per microorganismes té molts avantatges, que podem resumir tenint en compte:

— En condicions òptimes, la seva taxa de creixement és molt ràpida, però són sensibles als canvis de pH.

— La modificació genètica dels microorganismes, si escau, és més fàcil que en el cas de les plantes i els animals.

— Les proteïnes obtingudes a partir dels microorganismes presenten un elevat valor nutritiu.

— Els microorganismes es poden desenvolupar en massa, és a dir, en grans quantitats en contenidors relativament petits.

— Els microorganismes són capaços d'alimentar-se d'una àmplia gamma de productes de rebuig, i alguns són capaços de degradar, fins i tot, la cel·lulosa de plantes.

Un aspecte fonamental és la selecció i el control dels microorganismes, ja que no han de ser patògens, ni produir ni acumular compostos tòxics.

Entre els gèneres de bacteris més emprats per a la producció de proteïna, podem esmentar *Methylomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus* i *Aerobacter*, pel fet que són capaços de duplicar-se en un període de 20 a 30 minuts i que tenen un alt contingut de proteïnes, que pot arribar a un 85 %.

Entre els llevats, esmentarem les espècies *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Kluyveromyces fragilis*, útils tant en l'alimentació humana com animal i molt utilitzades en períodes de guerra.

En relació amb els fongs micelians, hem d'assenyalar que creixen més lentament que els bacteris i els llevats i que, entre les espècies d'elecció, hi podem destacar *Paecilomyces variotii*, *Gliocladium deliquescens* i *Fusarium graminearum*.

A la taula 1 es mostren exemples de gèneres de microorganismes, així com dels substrats sobre els quals es poden desenvolupar.

Els microorganismes utilitzats en la producció de biomassa han de ser inoculats en medis favorables (esterilitzats) i on s'apliquin les condicions nutricionals següents:

— Homogeneïtzar la matèria primera, de manera que al microorganisme li sigui fàcil metabolitzar-la.

— Eliminar els agents inhibidors del creixement microbià.

— Enriquir el medi amb nutrients com les sals ni-

trogenades i el fòsfor perquè serveixin de font mineral.

— Ajustar el pH i la humitat del substrat per afavorir el creixement dels microorganismes implicats.

— Aplicar tractaments tèrmics per eliminar els microorganismes patògens de la matriu o matèria primera.

El principal valor de la biomassa microbiana és l'aportació de proteïna. Els continguts de proteïna arriben a un màxim en els bacteris i a un mínim en els fongs filamentosos, i els llevats i les algues es queden en una posició intermèdia.

Aquesta proteïna bacteriana és nutricionalment similar a la proteïna del peix, mentre que la del llevat manté similituds amb la de la soja (Israelidis, 2003).

Pel que fa als minerals, l'SCP destaca com a font de fòsfor, encara que sol ser pobre en calci, i tampoc no és bona font de lípids alimentaris (FAO, 2003).

El perfil d'aminoàcids essencials és un dels factors bàsics a l'hora d'avaluar la qualitat d'un substrat proteic com a aliment. En general, els aminoàcids limitants són la lisina, la metionina i el triptòfan. La proteïna microbiana, anteriorment esmentada com la de rendiment més alt, és deficient en aminoàcids sulfurats, com la cisteïna i la metionina, mentre que mostra millors nivells de lisina. Aquest problema fa necessària la suplementació (Anònim, 2003). El perfil d'aminoàcids dels llevats és favorable, amb nivells satisfactoris de la majoria dels aminoàcids essencials, però mantenen, això sí, les baixes proporcions d'aminoàcids sulfurats com a factor limitant, i, de fet, arriben a nivells crítics de metionina.

Les deficiències en determinats aminoàcids essencials no desqualifiquen el valor de l'SCP. Aliments tan comuns com la llet o les lleguminoses, així com diversos cereals, són també deficitaris en lisina. El secret està en la suplementació i en la incorporació dins de dietes equilibrades.

L'SCP pot considerar-se com un excel·lent concentrat proteic. Això en fa un suplement òptim de les dietes per als animals, en què s'han obtingut excel·lents resultats en remugants (Phetteplace *et al.*, 2003).

La qualitat nutricional de l'SCP no només depèn del perfil d'aminoàcids: aspectes tan importants com la digestibilitat, el valor biològic i la utilització neta de

TAULA 1. Exemples de gèneres de microorganismes i dels substrats sobre els quals es poden desenvolupar

Gèneres	Substrats
<i>Spirulina</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i>	Diòxid de carboni (CO ₂)
<i>Bacillus</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Cellulomonas</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Thermococcus</i> , <i>Cellulosomas</i> , <i>Actinomucor</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Myrothecium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Pleurotus</i> , <i>Phanerochaete</i> , <i>Polyporus</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Sporotrichum</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Endomycopsis</i>	Derivats de la cel·lulosa
<i>Aureobasidium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Scytalidium</i> , <i>Candida</i> , <i>Pichia</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Torula</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Kluyveromyces</i> , <i>Endomycopsis</i>	Carbohidrats
<i>Methylomonas</i> , <i>Methanomonas</i> , <i>Hydrogenomonas</i>	Hidrocarburs

proteïna s'han de tenir molt en compte (Israelidis, 2003).

La digestibilitat és un dels problemes que eventualment pot presentar l'SCP, especialment amb els llevats. Es dona amb certes espècies que presenten parets cel·lulars indigeribles per a l'ésser humà i fins i tot per a alguns animals, la qual cosa pot ser causa de al·lèrgies (Israelidis, 2003; Butolo, 2003). No obstant això, no deixa, en molts casos, d'ésser considerada com a bona (Anònim, 2003; Chicas, Porras i Soto, 1999; Bustamante *et al.*, 2003).

La palatabilitat i l'acceptabilitat són altres problemes d'interès, ja que molts dels resultats sensorials obtinguts en els estudis no solen ser gaire favorables, ni en els humans ni en els animals (Israelidis, 2003; Bergquist i Jurgenson, 1996).

L'SCP es caracteritza per ser una font alimentària de baixes calories (388 cal/100 g, de mitjana). No s'han detectat proves contundents que denotin problemes toxicològics causats per la ingesta d'SCP. Els estudis efectuats amb rates alimentades amb dietes d'un 30 % d'SCP pura no van reportar efectes sobre el creixement, la ingesta d'altres aliments o els valors hemàtics (Anònim, 2003). La biomassa microbiana conté també tot un seguit de compostos nutricionals, com ara vitamines, enzims, carotens, tocoferols i d'altres. Algunes de les vitamines més importants presents en alguns microorganismes emprats tenen nivells més alts que els que es troben en altres aliments, i també permeten detectar-ne valors hemàtics més alts (Anònim, 2003).

Les vitamines presents a l'SCP són primordialment del complex B. La vitamina B₁₂ es troba principalment als bacteris, mentre que la vitamina A es troba generalment a les algues.

L'SCP se sol trobar significativament desproveïda de colesterol i greixos. Així mateix, la seva forma íntegra podria complir funcions similars a les de la fibra dietètica, fet que contribuiria a rebaixar la incidència de la diabetis i l'arterioesclerosi (EDV, 2003). Actualment s'estudia el paper de certs antígens rectificadors de l'activitat dels limfòcits T presents a l'SCP, que són promotors d'una millor resposta immunitària a les malalties (EDV, 2003).

La fracció més important del nitrogen no proteic de l'SCP, al voltant d'un 30 % o 20 % de la proteïna total, es troba en forma d'àcids nucleics altament polimeritzats i dels seus productes de descomposició (Israelidis, 2003; FAO, 2003). L'alt contingut d'àcids nucleics és normal i característic de tot organisme que presenti altes taxes de creixement, com és el cas de la proteïna unicel·lular, i pot ser un seriós inconvenient si aquesta es pensa destinar per al consum dels éssers humans (Anònim, 2003).

Desavantatges

En ocasions, la proteïna obtinguda no presenta les característiques d'olor, textura, color i gust que la farien acceptable per al consumidor. També, es pot produir una digestió lenta o nul·la al tracte digestiu de l'ésser humà i en animals, especialment en el cas de les algues, i això pot ser causa d'indigestió o de reaccions al·lèrgiques.

PROJECTE DE RECERCA. PRIMERS RESULTATS

Es presenten els resultats inicials del projecte de recerca que es desenvolupa a l'Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya, sota el patrocini de La Caixa i la Conselleria de Justícia, intitulat «Fermentacions de subproductes agrícoles i menuts d'escorxadors per substituir la soja».

Equip de recerca

L'equip està constituït per membres dels grups de recerca següents de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB):

— Grup de Recerca en Microbiologia Aplicada i Mediambiental del Departament de Sanitat i Anatomia Animals. Professora responsable: doctora M. Àngels Calvo.

— Grup de Recerca en Remugants del Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Professor responsable: doctor Gerardo Caja.

— Grup de Compostatge de Residus Sòlids Orgànics del Departament d'Enginyeria Química. Professora responsable: doctora M. Teresa Gea.

Objectius

El projecte té com a principals objectius:

— Estudiar les característiques fermentatives i els factors d'optimització del procés fermentatiu, incloent-hi els inòculs microbians innovadors, per la seva rendibilitat i la qualitat dels productes obtinguts.

— Estudiar la composició i la valoració nutritiva dels productes obtinguts per a la seva utilització com a suplement proteic destinats a l'alimentació animal.

Pla de recerca

Activitat 1. Estudi de la fermentació dels materials seleccionats

En una primera fase es determina el potencial de fermentació dels substrats seleccionats, a escala de labora-

tori i a temperatura controlada, en tubs d'assaig per fer-ne una primera tria, i posteriorment els inòculs innovadors que permetin obtenir millors resultats es faran desenvolupar sobre els substrats seleccionats a diferent escala: en matrassos de 500 mL i finalment en reactors d'1 L equipats amb una mesura de pressió per al càlcul del biogàs produït. Com a inòculs innovadors, s'utilitzen bacteris làctics, llevats i una barreja constituïda per bacteris làctics, llevats i bacteris fotòtrofs.

S'avalua la millora de la digestibilitat dels residus i el seu poder nutritiu i, paral·lelament, la producció de biogàs, font d'energia renovable.

Es comparen els resultats obtinguts amb els diferents microorganismes en desenvolupar-se sobre substrats com, per exemple:

- Residus de fruites: pomes i taronges.
- Algues procedents dels canals de l'Ebre i que representen una greu font de residus quan es volen eliminar.
- Melasses.
- Residus de productes làctics.
- Residus d'escorxadors.

A partir del potencial de fermentació i de les característiques dels residus, es du a terme la selecció dels materials, incloent-hi la formulació de possibles barreges. En la formulació es tindran en compte també la quantitat i l'estacionalitat amb les quals es generen aquests residus. Un cop definits els substrats òptims, s'avaluarà la fermentació dels millors substrats potencials en bioreactors de més volum.

Les mostres finals obtingudes es conservaran per al seu anàlisi a l'activitat 2.

PART EXPERIMENTAL DE L'ACTIVITAT 1

- Assaigs sobre:
 - Residus de fruites (pomes i taronges).
 - Residus làctics.
 - Algues.
 - Pèllet de palla.
 - Residus sòlids amb presència o absència de sals.
- Es preparen matrassos amb els substrats esmentats, enriquits amb sals i urea i sense enriquiment.
- Els microorganismes assajats han estat:
 - Bacteris làctics.
 - Barreja de bacteris làctics, bacteris autòtrofs, altres bacteris i llevats.
 - Bacteris de rumen d'ovella i vaquí.
- Les condicions d'incubació han estat:
 - 37°C de temperatura.
 - Condicions anaeròbiques.
 - 7,5 de pH.
 - 5% - 6% de matèria seca.

Els primers resultats obtinguts permeten assenyalar:

- Producció de gas i desenvolupament correcte dels microorganismes sobre residus de fruites i algues.

- Producció de gas molt marcada i creixement als tubs que contenen pèllet de palla, sals i rumen de vaca o d'ovella.

La presència de residus làctics o de líquids alimentaris afavoreix el creixement dels microorganismes.

La segona fase experimental a escala de laboratori l'estan duent a terme els professors M. Àngels Calvo i Leo Arosemena, del Grup de Recerca en Microbiologia Aplicada i Mediambiental de la Facultat de Veterinària de la UAB.

Estudiades les múltiples possibilitats de la producció de proteïna microbiana, es va decidir seguir el model de l'aparell digestiu dels remugants, amb especial atenció al rumen d'un boví. En perspectiva industrial, es va pensar en els bioreactors d'Ecobiogas SA. Ecobiogas treballa en noves aplicacions per a la companyia alemanya Krieg & Fischer, empresa líder en la producció de biogàs. L'obtenció de gas metà es va plantejar com a objectiu per estalviar la despesa energètica. Per tant, es va determinar que seria una fermentació anaeròbica i de procés continu.

Els primers experiments es van fer en tubs d'assaig, ajustant a l'extrem superior un globus per recollir el gas.

Els substrats elegits van ser pèllets de palla del Grup Osés, subproductes vegetals del grup Nufri i reciclatge d'aliments humans de la companyia Promic SA. Aquestes matèries primeres van ser elegides atenent les regulacions legals europees dels subproductes; d'aquesta manera, es garantia que eren aptes i acceptades per a l'alimentació animal. Pel que fa als microorganismes, es va utilitzar rumen de boví, rumen d'oví i els bacteris *Lactobacillus plantarum* i *Cellulomonas*.

Pel que fa a les condicions de la fermentació, es va decidir treballar a una temperatura de 36°C, una concentració de matèria seca d'entre un 6% i un 9%, un pH de 7 a 7,5 i diferents solucions salines inferiors al 0,9%.

Fetes més de 300 observacions en tubs d'assaig, es van escollir 7 emulsions per fer assaigs en matrassos d'Erlenmeyer. 3 d'aquestes emulsions es van provar en un bioreactor de laboratori LH de 2 L. Es va analitzar el contingut de proteïna, àcids nucleics i metà, amb resultats esperats i esperançadors. Finalment, aquesta proteïna unicel·lular es va donar a unes gallines i a unes rates per provar-ne la palatabilitat.

Activitat 2. Estudi de la composició i la valoració nutritiva dels productes obtinguts per a la seva utilització com a suplement proteics en alimentació animal

Es proposa l'avaluació de la capacitat nutritiva de les mostres obtingudes en l'activitat anterior. Es proce-

dirà a determinar la composició química de les mostres seguint els esquemes clàssics de Weende i Van Soest.

Els valors analítics i de palatabilitat de la proteïna microbiana obtinguts a escala de laboratori estan dins dels canons establerts; per aquest motiu, hem plantejat una tercera fase del projecte. S'ha dissenyat un bio-reactor semiindustrial per fer les proves pilot i poder establir, o no, la seva viabilitat econòmica.

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- ANÒNIM (2003). *Single cell protein sources* [en línia]. <<http://www.biotechnologie.net/singlecellprotein.htm>> [Consulta: 10 novembre 2017].
- BERGQUIST, B.; JURGENSON, J. (1996). «Utilisation of polyvinyl alcohols for the production of single cell protein by microbial fermentation in enclosed systems». A: *Recycling and Reuse Technology Transfer Center* [en línia]. <<http://www.uni.edu/~rrttc/POLY/>> [Consulta: 14 novembre 2017].
- BIOCITY (2003). *Levaduras* [en línia]. <<http://biocity.iespana.es/biocity/micro/leva.htm>> [Consulta: 22 octubre 2017].
- BUSTAMANTE, Z.; GALINDO, E.; HUANTA, M.; BALLESTEROS, F. (2003). «Obtención de bioproteína a partir de bagazo de naranja (*Citrus sinensis*) con *Aspergillus niger*». *Agronomía Mesoamericana* [en línia]. <<http://www.umss.edu.bo/epubs/earts/htmls/49.html>> [Consulta: 18 octubre 2017].
- BUTOLO, E. A. F.; NOBRE, P. T. C.; BUTOLO, J. E.; SERAFINI, F. V. (2003). «Utilização da levedura de cana-deaçúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frangos de corte» [en línia]. <<http://www.supremais-.com.br/03.htm>>.
- CHACÓN VILLALOBOS, A. (2004). «Perspectivas actuales de la proteína unicelular (SCP) en la agricultura y la industria». *Agronomía Mesoamericana*, vol. 15, núm. 1, p. 93-106.
- CHICAS, M.; PORRAS, A.; SOTO, S. (1999). *Producción de proteína unicelular a partir de Saccharomyces cerevisiae utilizando un medio elaborado con banano* [en línia]. <http://www.itcr.ac.cr/carreras/biotecnologia/trabajos_de_investigacion/produccion_proteina_unicelular.htm> [Consulta: 17 octubre 2017].
- EDV (2003). «Nutriente de control inmunitario» [en línia]. <<http://www.edv.com.ar/nut-inmu.htm>> [Consulta: 10 octubre 2017].
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2003). *Single cell protein* [en línia]. <<http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/AFRIS/Data/734.htm>> [Consulta: 20 octubre 2017].
- ISRAELIDIS, C. J. (2003). *Nutrition - single cell protein, twenty years later* [en línia]. <<http://business.hol.gr/~bio/HTML/PUBS/VOL1/isreali.htm>> [Consulta: 9 maig 2019].
- PHETTEPLACE, H.; JAROSZ, M.; UCTUK, D.; SPORLEDER, R. (2003). «Evaluation of single cell protein as a protein supplement for finishing cattle» [en línia]. <<http://ansci.colostate.edu/documents/renut/2000/hp00.html>> [Consulta: 16 octubre 2017].