



Aislamiento de levaduras oleaginosas a partir residuos orgánicos de la plaza Frutas y verduras Doña Yady, con el fin de obtener un sustrato para la posible producción de biodiesel

Isolation of oleaginous yeasts from organic wastes collected from Doña Yady Fruit and Vegetable market, to obtain a substrate for the possible production of biodiesel

Sara Catalina Aristizábal Gómez

Juan José Vásquez Salazar

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería Ambiental

Bogotá, 04/05/2022

Aislamiento de levaduras oleaginosas a partir residuos orgánicos de la plaza Frutas y verduras Doña Yady, con el fin de obtener un sustrato para la posible producción de biodiesel

Isolation of oleaginous yeasts from organic wastes collected from Doña Yady Fruit and Vegetable market, to obtain a substrate for the possible production of biodiesel

Sara Catalina Aristizábal Gómez

Juan José Vásquez Salazar

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniero Ambiental

Director (a):

Carel Elizabeth Carvajal Arias

Línea de Investigación:
Ingeniería para la sostenibilidad

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa Ingeniería Ambiental
Bogotá, Colombia

2022

Nota de Salvedad de Responsabilidad Institucional

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético de este en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

Primeramente, agradecemos a Dios y dedicamos el presente trabajo a nuestras familias quienes con su amor, paciencia y esfuerzo nos han permitido llegar a cumplir hoy una meta más, así mismo, a nuestra directora por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso.

1. Tabla de Contenido

5. Resumen	7
6. Abstract	7
7. Introducción	8
8. Planteamiento de problema	9
9. Justificación	12
10. Objetivo General y específicos	15
11. Marco de referencia	15
11.1 Estado del arte	15
11.2 Marco teórico	17
11.3 Marco Normativo	20
11.4 Marco Geográfico.....	22
11. 5 Marco Institucional.....	23
12. Metodología	24
12.1 Enfoque.....	24
12.2 Alcance.....	24
12.3 Método.....	25
12.4 Técnicas e instrumentos.....	25
12.5 Procedimiento	25
12.5.1 Delimitación del lugar y sitio de muestreo.....	25
12.5.2 Preparación del zumo y aislamiento de levaduras.....	26
12.5.2.1 Segundo aislamiento colonia representativa	26
12.5.3 Acumulación y extracción de lípidos medio industrial	26
12.5.4 Acumulación y extracción de lípidos medio orgánico	27
12.5.5 Diagrama de flujo metodología	27
13. Aspectos Éticos	28
14. Resultados	28
15. Análisis y discusión	35
16. Conclusiones y recomendaciones	40
17. Referencias bibliográficas	42

2. Listado de Tablas

Tabla 1. Decretos y leyes que rigen al proyecto (marco normativo)

Tabla 2. Registro de UFC/mL para medios de cultivo

Tabla 3. Registro de crecimientos por características morfológicas

Tabla 4. Producción de lípidos por medio inductor

3. Listado de Figuras

Figura 1. Árbol de problemas

Figura 2. Coordenadas plaza de mercado Frutas y verduras Doña Yady

Figura 3. Carpas y disposición de residuos orgánicos Frutas y verduras Doña Yady

Figura 4. Organigrama instituciones involucradas en el proyecto

Figura 5. Diagrama de flujo metodología

Figura 6. Crecimiento microbiológico en medio YPDA y Sabouraud

Figura 7. Ejemplificación de codificación de colonias

Figura 8. Gráfica comparativa de medios inductores

Figura 9. Reacción síntesis de novo

4. Listado de Anexos

Anexo A. Preparación de medios de cultivo

Anexo B. Preparación medio inductor sintético

Anexo C. Cálculo de porcentaje de grasa

5. Resumen

Las levaduras oleaginosas son un grupo de microorganismos que se pueden aislar de diversos residuos orgánicos, y que son ampliamente aprovechados en la transformación de biomasa y en la producción de energías limpias, dado a su capacidad de producir lípidos que se pueden emplear como sustrato para la producción de biocombustibles. Actualmente Colombia y el mundo en general presenta una problemática enmarcada en las dinámicas energéticas, donde la movilización depende en su mayoría de la utilización

de combustibles fósiles, los cuales son uno de los principales responsables de la emisión de gases de efecto invernadero. El presente trabajo de grado se realizó con el fin de seleccionar un residuo orgánico que sirviera de sustrato para el aislamiento y crecimiento de levaduras oleaginosas, obteniendo de estas la materia prima para producir biodiesel. Para dar cumplimiento al objetivo inicialmente se aislaron las levaduras de los residuos orgánicos en el medio de cultivo YPDA y se caracterizaron las levaduras macroscópicamente obtenidas de residuos orgánicos provenientes de la plaza de mercado Frutas y verduras Doña Yady. Posteriormente se comparó la acumulación de lípidos producidos empleando los medios inductores orgánico e industrial mediante la cuantificación de producción lipídica y el cálculo de su porcentaje, dando como principal resultado que el medio inductor de origen orgánico tiene un mayor potencial de producción lipídica a comparación del medio inductor sintético. La investigación resulta relevante desde el campo de la ingeniería ambiental dado a la necesidad de cambiar las dinámicas energéticas que se tienen actualmente, las cuales se basan principalmente en la utilización de combustibles fósiles, los cuales son los principales precursores del cambio climático y la contaminación atmosférica derivado de los procesos industriales.

Palabras clave: Biodiesel, Biomasa, Energía, Levaduras oleaginosas, Medio de Cultivo, Residuos orgánicos.

6. Abstract

Oleaginous yeasts are a group of microorganisms that can be isolated from diverse organic wastes and are widely used in the transformation of biomass and in the production of clean energies, thanks to their capacity to produce lipids that can be used as substrate to produce biofuels. Currently, Colombia and the world in general has a problem in terms of the energy dynamics, where mobilization depends mostly on the use of fossil fuels, which are one of the main responsible for the emission of greenhouse gases. The present work was carried out with the purpose of selecting an organic waste that would serve as a substrate for the isolation and growth of oleaginous yeasts, obtaining from these the raw material to produce biodiesel. To achieve the objective, yeasts were initially isolated from the organic wastes in a YPDA growth medium, and the yeasts obtained from organic waste from Doña Yady Fruit and Vegetable Market were characterized macroscopically. Subsequently, the accumulation of lipids produced using the organic and industrial inducing medium were compared by their production and the calculation of the lipid production percentage. The research is relevant in the environmental engineering area given the

need to change the current energy dynamics, which are mainly based on the use of fossil fuels, which are the main precursors of climate change and atmospheric pollution derived from industrial processes.

Keywords: Biodiesel, Biomass, Energy, Growth medium, Oleaginous yeast, Organic wastes.

7. Introducción

El estudio de la transformación de biomasa y el aprovechamiento de los residuos orgánicos para fines de biocombustibles ha tomado fuerza en los últimos tiempos debido a la crisis energética mundial a la cual está sometida la población (Arcos Velasco, 2020). El aceite microbiano, el cual se extrae del aislamiento de las levaduras oleaginosas en residuos orgánicos y también conocido como SCO (por sus siglas en inglés (Single Cell Oil), es aquel obtenido por los microorganismos; su composición es similar a la de aceites vegetales y animales. En comparación con los aceites de origen vegetal, los microorganismos presentan ventajas potenciales como fuentes de lípidos por su gran velocidad de generación, gran variedad de materias primas y un bajo costo al ser utilizadas como sustrato, lo que resulta ideal para la obtención de sustratos para la fabricación de biocombustibles. Además, requieren menores áreas de producción para la misma cantidad de lípidos y controles más simples para la producción, son independientes de los cambios climáticos o estacionales y son aptos para la fermentación a gran escala (Arcos Velasco, 2020).

Tanto a nivel nacional como internacional se ha trabajado el tema de la conversión de residuos orgánicos a biocombustibles, desde el cultivo de insectos en los desechos para producir grasas como sustrato de biodiesel (Surenda et al., 2016), hasta el uso de sistemas acuáticos para la extracción de levaduras oleaginosas (Arcos Velasco, 2020). Durante la elaboración de este tipo de investigaciones se puede identificar una constante, que es la elaboración de la metodología a un solo medio inductor, el proyecto de investigación que se presenta tiene como innovación determinar la diferencia de producción de aceite microbiano, el cual actúa como sustrato para la posible producción de biodiesel, proveniente de levaduras oleaginosas sembradas en un medio industrial con respecto a lo producido por otra siembra pero en un medio orgánico, la comparación resulta relevante ya que se pueden analizar diversas alternativas de bajo costo y eficientes para la obtención de este aceite microbiano que actúa como materia prima para la producción de biodiesel y demás biocombustibles asociados a la transformación de biomasa.

Dentro del área del estudio y desde la ingeniería ambiental se busca entrelazar el campo del aprovechamiento de los residuos sólidos y la gestión integral de estos con la microbiología ambiental y todas las herramientas que este campo ofrece para encontrar nuevos métodos de conversión de biomasa y generación de energías limpias. Para el trabajo de investigación se tiene como objetivo principal aislar y caracterizar levaduras oleaginosas a partir de residuos orgánicos de la plaza Frutas y verduras Doña Yady, con el fin de obtener un sustrato para la posible producción de biodiesel.

8. Planteamiento del problema

En Colombia, la producción de residuos orgánicos en las plazas de mercado del país es un problema grave, especialmente por el aspecto ambiental negativo que se puede observar en la mayoría de estas, provocado por prácticas inadecuadas de manejo de alimentos como por la falta de ejecución de planes de separación, recuperación y aprovechamiento de los grandes volúmenes de residuos orgánicos generados (Muñoz Quintero, 2012). Es preciso señalar que el aprovechamiento de residuos sólidos en Bogotá se encuentra en un grado muy mínimo, debido a los bajos niveles de utilización del potencial de los recursos disponibles. La ciudad produce aproximadamente 4.000 toneladas al día, de los cuáles la Central Mayorista (Corabastos) contribuye un estimado de 350 toneladas por día, y en promedio, una plaza de mercado de la Ciudad Capital genera 7.099,4 kg de residuos en una semana (Hermida Castillo, 2014). De este modo, la proporción de orgánicos sobre los residuos sólidos urbanos alcanza el 55% de la producción per cápita. La disposición indiscriminada en rellenos sanitarios se traduce en pérdida de nutrientes y contaminación ambiental. De igual manera, el no aprovechamiento implica que la vida útil de los rellenos sanitarios se agote de manera más rápida. Actualmente se sabe que sitios aptos para tal fin escasean y que, además, el montaje y operación de esta infraestructura es inductor de graves conflictos ambientales y sociales (Melo Henríquez, 2019).

Con base en lo anterior, la plaza de mercado informal frutas y verduras Doña Yady en la mayor parte de su tiempo almacena los residuos sólidos orgánicos en costales que se dejan a la intemperie hasta que el camión recolector de basura los recoja el lunes, adicionalmente, generan alrededor de 350 kg de residuos sólidos orgánicos a la semana. Teniendo en cuenta esto, la eliminación inadecuada de los desechos orgánicos puede atraer moscas, ratas, perros, serpientes, insectos y otros animales, especialmente en climas tropicales. Otro factor, está relacionado con la carencia de alimentos, ya que, las personas pueden verse obligadas a revisar los contenedores o bolsas de basura. Por otro lado, los charcos de agua asociados

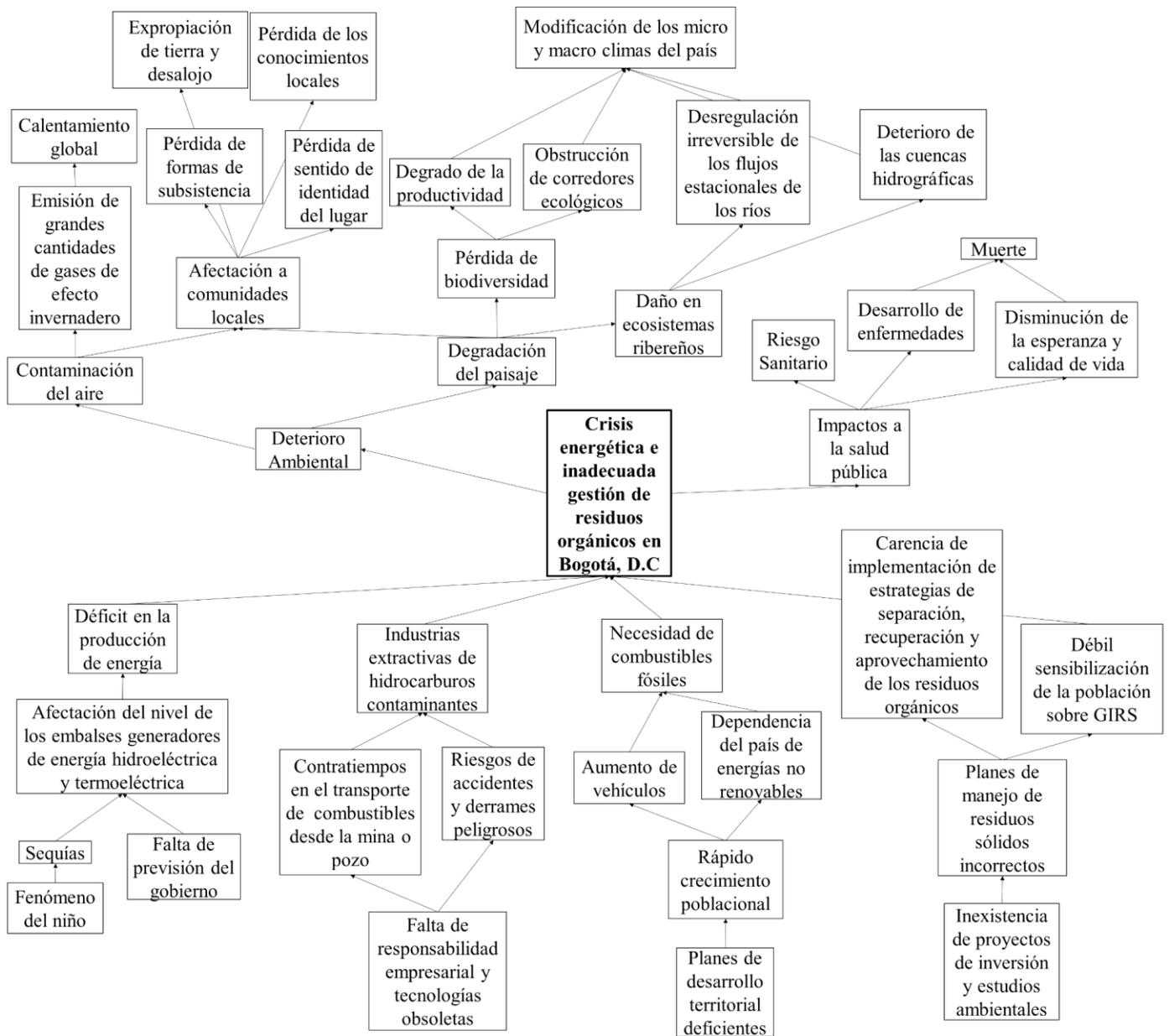
a los residuos sólidos pueden generar criaderos de mosquitos que transmiten malaria, dengue y la fiebre amarilla. Además, los desechos que permanecen afuera durante la temporada de lluvias pueden contaminar fuentes de agua, obstruir las tuberías y desagües de agua causando inundaciones, desmotivando y bajándole la moral de las personas y las comunidades circundantes (Organización Mundial de la Salud).

Sumado a esto, entre las principales dificultades que encara actualmente la humanidad, predominan la degradación ambiental y la crisis energética. Una de las principales causas de la contaminación del aire es la quema de combustibles fósiles, ya que emiten grandes cantidades de gases de efecto invernadero (Arcos Velasco, 2020). Además, los procesos de extracción para adquirirlos pueden contaminar el agua, el aire, y afectar negativamente a las comunidades locales. El transporte de los combustibles desde la mina o el pozo puede contaminar el aire, supone riesgos de accidentes y derrames peligrosos. La quema de estos hidrocarburos emana toxinas y gases. También, los productos residuales son peligrosos para la salud pública y de los ecosistemas (Union of Concerned Scientists, 2018).

Así mismo en Colombia la recesión energética actual demuestra la enorme dependencia de nuestro país de la energía hidráulica de más del 60% de la oferta nacional. Las hidroeléctricas provocan pérdida de biodiversidad: daños en los ecosistemas ambientales ribereños, humedales, bosques, flora, fauna y hábitat naturales, degradando su productividad, la alteración de la calidad de las aguas, la desregulación irreversible de los flujos estacionales de los ríos, la obstrucción de corredores ecológicos y la degradación de las cuencas hidrográficas, modificando el clima y los patrones medioambientales en general (Barnier González, 2016). Dichas preocupaciones mencionadas anteriormente, inciden directamente en la salud pública, de este modo, la OMS relaciona, desde el riesgo sanitario, la contaminación del aire con enfermedades como el cáncer pulmonar, asma bronquial y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, pero también con enfermedades extrapulmonares como el impacto agudo de miocardio y el accidente cerebrovascular, con incidencias que van hasta el 30% en algunas de ellas (Crónicas ONU). A continuación, se precisa lo expuesto anteriormente, en el siguiente árbol de problemas en la parte inferior se puede observar las causas, en el centro la principal problemática y en la parte superior los efectos.

Figura 1.

Árbol de problemas



De ello resulta la siguiente pregunta de investigación, ¿Las cepas de levaduras oleaginosas aisladas a partir de residuos orgánicos provenientes de una plaza de mercado tienen la capacidad de producir la materia prima para la elaboración de biodiesel?

9. Justificación

A nivel social el continuo crecimiento de la población en ciudades y municipios ha aumentado las tasas de eliminación de desechos orgánicos y el consumo de combustibles fósiles, lo que ha llevado a la apertura de nuevos vertederos e incineradores. Una alternativa a dicha problemática es el aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos, ya que reduce la construcción de lugares de

disposición final, disminuyendo a su vez impactos directos a las zonas vulnerables próximas a estos, tales como olores, plagas, vectores y enfermedades asegurando la salud y seguridad pública. La gestión de residuos ha abarcado estrategias para el mantenimiento de la calidad del ambiente y sostenimiento de metas futuras. Permitiendo que industrias y agencias gubernamentales, hagan frente a las necesidades comunes en el reciclaje de materiales biodegradables, con el fin de ampliar el suministro de energía renovable. De esta manera, se posibilita llevar energía a comunidades remotas permitiendo el desarrollo de estas, se incrementa el empleo formal y se promueve la “conciencia ambiental” en la comunidad donde se desarrolla el proyecto (Castañeda-Torres & Rodríguez-Miranda, 2017). Además, una de las evidencias más sólidas de los efectos negativos para la salud humana asociados con la degradación ambiental son las enfermedades ambientales. La caracterización de una enfermedad relacionada con el ambiente es fundamental porque indica la posibilidad de prevenirla mediante acciones sobre el ambiente y no sobre los individuos o las poblaciones. Esto resulta fundamental dado el énfasis en cambios conductuales personales que guían gran parte de las políticas nacionales e internacionales en salud (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2012).

Así mismo, en el ámbito ecológico al realizar un óptimo aprovechamiento (procesamiento o transformación) de los residuos sólidos orgánicos se disminuye la cantidad de desperdicios que llega al relleno sanitario, lo cual, a su vez, reduce las emisiones de gases responsables del calentamiento global y lixiviados que contaminan los acuíferos. Un ejemplo de esto es la producción de hongos, en donde se aprovechan los residuos orgánicos de la agroindustria local, tales como, los rastrojos y bagazos que resultan durante la cosecha de los cultivos (INECOL, 2017). Dichos hongos se pueden utilizar como precursores de biocombustibles, que al ser implementados como energía limpia se obtienen diversas ventajas ambientales tales como, la nula emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y de otros contaminantes atmosféricos que contribuyen al cambio climático, disminuyendo enfermedades relacionadas con la contaminación, por otro lado, no necesitan grandes cantidades de agua para su funcionamiento, además, reducen la necesidad de industrias extractivas en la medida que se evita el uso de combustibles fósiles (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2018). Es importante destacar que en Colombia la crisis energética se hizo más evidente en los años 2015 y 2016, causada por la baja capacidad del país de proporcionar energía eléctrica a causa del fenómeno de El Niño, combinado con la falta de previsión del gobierno colombiano. El fenómeno climático ocasionó sequías en el territorio colombiano, lo cual afectó los niveles de los embalses generadores de energía hidroeléctrica y

termoeléctrica, provocando déficit en la producción de energía de las instalaciones operadas (Mateus Valencia, 2016).

Con base en lo anterior, referente a lo económico, Colombia no está exenta de repetir la situación de escasez en la generación de energía, lo que lo hace que sea más dependiente del consumo de combustibles fósiles, este recurso natural es una fuente energética no renovable y, a últimas fechas, se ha comunicado que las reservas mundiales tarde o temprano se acabarán. El petróleo se agotará en 41 años, el gas natural en 63 años y el carbón en 218 años (Medina Ramírez et al., 2012). Una solución a dicha problemática es el uso de biomasa para sustituir materiales no renovables. Esto puede contribuir a descarbonizar la economía, mejorando la seguridad de suministro y evitando el cambio climático (Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud). Por lo tanto, el país no puede ser ajeno a las tendencias mundiales en materia de recursos energéticos y en especial, en lo que respecta a los combustibles líquidos. De este modo, el uso de levaduras oleaginosas para la producción de biodiesel es una fuente atractiva para el futuro de la industria y una alternativa bastante promisoriosa y ambientalmente sustentable para cubrir parte de la demanda energética de combustibles derivados del petróleo destinados al transporte (Arcos Velasco, 2020).

Finalmente, como ingenieros ambientales se propone este proyecto con la finalidad de diseñar un producto y servicio que gestione los recursos ambientales de forma responsable y con un uso eficiente para mitigar la degradación ambiental actual y contribuyendo a mejorar la salud pública del país, esto fundamentado con los objetivos de desarrollo sostenible, el ODS 7 y el 12, los cuales proponen el acceso a una energía asequible, fiable, sostenible y moderna para todos, debido a que actualmente las poblaciones que viven en lugares donde no se encuentran depósitos de combustibles fósiles accesibles recurren a métodos de combustión más primitivos, con materiales como fibras de madera o incluso estiércol. Por ejemplo, en la actualidad hay unos 2.700 millones de personas (en torno al 40% de la población mundial) que utilizan combustibles de biomasa tradicional para cocinar. Esos combustibles de baja calidad pueden ser una fuente importante de contaminación del aire interior. El número anual de víctimas mortales por contaminación del aire interior sigue siendo superior a los 1,5 millones de personas, es decir, una tasa más elevada que las de la malaria y la tuberculosis. Así mismo, hoy, el carbón genera aún en torno al 40% de la electricidad mundial y casi la misma proporción de las emisiones mundiales de carbono (Naciones Unidas, 2022). Por otro lado, al garantizar modalidades de consumo y producción

sostenibles, se contribuye al mejoramiento de la problemática de que cada año, se estima que un tercio de toda la comida producida (el equivalente a 1.300 millones de toneladas con un valor cercano al billón de dólares) acaba pudriéndose en los cubos de basura de los consumidores y minoristas, o estropeándose debido a un transporte y unas prácticas de recolección deficientes (Naciones Unidas, 2022).

De este modo, este proyecto tuvo como alcance llevar a cabo un óptimo aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos provenientes de una plaza de mercado de origen informal de la ciudad de Bogotá, Colombia, dichos residuos fueron recolectados según la disponibilidad de la plaza condicionados a que presentaron un grado de descomposición mínima, con la finalidad de aislar levaduras oleaginosas las cuales se encargaron de producir y acumular grasas en forma de triglicéridos, estos son precursores de biodiesel, así mismo, elaborar un sustrato de origen orgánico que indujera una correcta lipogénesis generando mayor rendimiento en comparación a los industriales, de este modo, se contribuye a un uso eficiente de los desechos orgánicos permitiendo una disminución de la cantidad dispuesta en rellenos sanitarios disminuyendo la contaminación intrínseca de estos, contribuyendo al aumento de la vida útil y una merma en la apertura de dichos lugares, así mismo se genera la materia prima para la fabricación de biodiesel producido a base de aceites y grasas, el cual tiene como uso principal la generación de energía alternativa a la producida por combustibles fósiles, por lo cual, se reduce la contaminación del aire y las enfermedades asociadas a esta, potenciando las comunidades donde se ejecute el proyecto. De igual forma, es preciso tener en cuenta las limitaciones que abarcaron el proyecto, tales como, la disponibilidad de reactivos del laboratorio para realizar más ensayos, el tiempo limitado que no permitió realizar un análisis estadístico robusto de los diversos experimentos.

10. Objetivos general y específicos

General: Aislar y caracterizar levaduras oleaginosas a partir de residuos orgánicos de la plaza Frutas y verduras Doña Yady, con el fin de obtener un sustrato para la posible producción de biodiesel.

Específicos:

1. Seleccionar un residuo orgánico para el aislamiento de levaduras oleaginosas.
2. Comparar un sustrato orgánico con un medio inductor sintético para la acumulación de lípidos en las levaduras oleaginosas.
3. Determinar la producción de lípidos acumulados por las levaduras aisladas de residuos orgánicos.

11. Marco de referencia

11.1. Estado del Arte

En el campo de investigación de salud y microbiología ambientales se pueden encontrar diversos autores que exponen estudios relacionados con el aprovechamiento de residuos orgánicos con el fin de producir biocombustibles o derivados, estos abordan la problemática y la construcción de las alternativas de manera específica, en sitios no antes estudiados y buscando materias primas que sean de escasa investigación.

En cuanto a lo que caracteriza esta investigación de las antes consultadas, es la forma de mirar la problemática de una manera íntegra y eficiente, brindando un sustrato de origen orgánico mejorado para potencializar la producción de aceite microbiano por levaduras oleaginosas que aporte a la construcción de una adecuada gestión de residuos orgánicos en una plaza de mercado de la ciudad de Bogotá, en comparación con los estudios base para esta investigación, que en su mayoría trabajan con sustratos de origen industriales de un solo uso.

A nivel internacional es donde el campo de investigación se ha desarrollado más, existe una gran variedad de estudios relacionados con la conversión de biomasa con el fin de producir bioetanol o biocombustibles, un ejemplo de estos es lo planteado en la investigación titulada “Bioconversion of solid wastes into biodiesel and animal feed via insect farming” estudio llevado a cabo en el año 2016 y que expone una alternativa adicional de aprovechamiento de residuos orgánicos, mediante el cultivo de larvas de la mosca soldado negra (BSF) (*Hermetia illucens*) en los desechos de alimentos para producir grasa y prepupas de BSF ricas en proteínas. El aceite derivado de BSF tiene una alta concentración de ácidos grasos saturados de cadena media (67% de ácidos grasos totales) y baja concentración de ácidos grasos poliinsaturados ácidos (13% de ácidos grasos totales), lo que lo convierte en un sustrato potencialmente ideal para producir biodiesel. (Surenda et al., 2016) este estudio aportó a la presente investigación en el campo metodológico.

De igual forma, en el campo de producción de aceite microbiano utilizando microorganismos oleaginosos, en el año 2018 se expuso el estudio titulado “Biodiesel production by various oleaginous microorganisms from organic wastes” en donde analiza los enfoques para lograr una bioconversión efectiva de sustratos de bajo costo en lípidos microbianos, considerando simultáneamente las

características de cada microorganismo y cada sustrato, mejorando los rendimientos de lípidos utilizando concentraciones suficientes de fuentes de carbono orgánico. (Cho y Park, 2018) El estudio aportó teórica y metodológicamente.

De los estudios más recientes que podemos encontrar en la literatura y bastante relacionado con la temática del proyecto de investigación a trabajar, se encuentra la selección y caracterización de levaduras oleaginosas aisladas a partir de sistemas acuáticos en la ciudad de Cali, estudio llevado a cabo en el año 2020, el cual identifica que las levaduras son microorganismos de interés industrial por su potencial de producir aceite microbiano, el estudio evalúa las distintas cepas y su capacidad de producción, en este estudio se consideró que el agua cruda y residual son buenas fuentes para el aislamiento de estos microorganismos. (Arcos Velasco, 2020) La investigación aportó metodológica y teóricamente.

En el campo de la utilización de residuos orgánicos para la obtención de estas levaduras podemos encontrar un estudio similar titulado aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica de la micro flora levaduriforme de interés agroindustrial para la producción de Bioetanol asociada al Borojón y lulo, llevado a cabo en la ciudad de Cali, en este estudio utilizan estos sustratos recogidos y directamente utilizados para el aislamiento de las levaduras, realizan una caracterización específica y evalúan la capacidad de producción de etanol, identifican que las frutas son fuentes importantes de levaduras debido a su alto contenido de azúcares y a la constante visita de vectores, parámetro el cual se toma en cuenta en el presente estudio dado a que el sustrato se encuentra en una locación informal donde se puede identificar la constante frecuencia de vectores en los sustratos en la zona de estudio. (Hurtado, 2020)

11.2. Marco teórico

Para llevar a cabo el marco teórico fue necesario organizarlo de lo más a lo menos relevante, además, haciendo un recorrido desde los residuos orgánicos generados por las plazas de mercado en la ciudad de Bogotá, el biodiesel como una alternativa al consumo de combustibles fósiles hasta las generalidades de las levaduras oleaginosas con su respectivo crecimiento en medios de cultivo, tal como se evidencia a continuación:

Generación de residuos orgánicos en las plazas de mercado de la ciudad de Bogotá

En Bogotá, las plazas de mercado son un vínculo entre el sector rural y el urbano, esta ciudad cuenta con 44 plazas entre públicas y privadas, de estas, 19 son de propiedad del Distrito. Sin embargo, estas traen consigo la problemática del incremento acelerado de la generación de residuos sólidos, esto asociado principalmente al aumento de la población y a los cambios culturales que producen un mayor consumo de productos. Junto a esto, se encuentran los deficientes planes de manejo y gestión de residuos. Igualmente, el proceso de disposición final, ya que hasta hace ocho años atrás seguían siendo en su mayoría los botaderos a cielo abierto o vertederos incontrolados. En Colombia el desarrollo e implementación de programas para el manejo de residuos sólidos ha tenido una prioridad moderada, haciendo que el 98% de los residuos sólidos orgánicos sean llevados directamente al relleno sanitario (Hermida Castillo, 2014). Dicha cifra es clave para este proyecto ya que los residuos sólidos de las plazas de mercado al tener un alto contenido orgánico (88.5%), de carbono entre 43.5 y 49.8% y de nitrógeno total entre 1.1 y 2.1% tienen las características químicas y físicas óptimas para ser tratadas por medio de sistemas biológicos como los tratamientos enzimáticos además de ser útiles para la preparación de medios de cultivos para microorganismos oleaginosos a base carbono y nitrógeno de origen natural.

Combustibles fósiles y biocombustible

Los combustibles fósiles son fuentes de energía no renovables que generan contaminantes y están vinculados al calentamiento global, el cambio climático e incluso algunas enfermedades incurables. Existen tres tipos de combustibles fósiles que pueden usarse para el suministro energético: petróleo, gas y carbón, los cuales son recursos finitos. En la actualidad los combustibles fósiles constituyen el 80% de la energía que se usa en el mundo (32% petróleo, 21% gas y 27% carbón) y cerca del 67% de las fuentes con que se produce electricidad (5% petróleo, 22% gas y 40% carbón). Por otro lado, los biocombustibles son combustibles líquidos, gaseosos o sólidos producidos a partir de biomasa (materia orgánica biodegradable), y que generan energía mediante un proceso de transformación. Dependiendo de la materia prima utilizada para la obtención de biocombustibles, éstos se clasifican en cuatro generaciones (Moran Mejía, 2020). Este proyecto se enmarca en la segunda y tercera generación, a partir de residuos de procesos agroindustriales y el extraído a partir de fuentes microbianas. Además, el biocombustible desarrollado para el sector del transporte es el biodiesel (producido a partir de la reacción de los aceites vegetales o grasas animales con alcohol).

Microorganismos oleaginosos y levaduras

Todas las células vivas están constituidas por un cierto contenido de lípidos, como componente estructural o de reserva, pero no todos los microorganismos pueden ser considerados como fuente de aceites y grasas. Dentro de los microorganismos oleaginosos se incluyen las levaduras, capaces de producir y acumular por lo menos el 20% de su peso seco en lípidos, generalmente en forma de triglicéridos (TGC) (Arcos Velasco, 2020). Bajo condiciones adecuadas de cultivo los rendimientos de algunas levaduras (naturales o modificadas genéticamente) pueden alcanzar valores entre 40% y 70% o más de lípidos en su composición celular en base seca (Pérez Faife et al., 2021). De este modo, las levaduras son hongos unicelulares no filamentosos con forma esférica u oval típica. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza y con frecuencia se encuentran como una cubierta polvorienta color blanco en frutas y hojas. La mayor parte son saprofitas que viven sobre la materia orgánica muerta (Moran Mejía, 2020).

El proceso de acumulación de lípidos comienza cuando existe un exceso de fuente de carbono y hay una limitación de nitrógeno en el medio de cultivo, produciendo un cambio importante en el metabolismo, se deprime la síntesis de proteínas y se activa la síntesis y acumulación de ácidos grasos. El lípido es un suministro de reserva intracelular de carbono y energía para ser utilizado en tiempos de agotamiento de nutrientes (Wynn & Ratledge, 2005).

Con base en lo anterior, es necesario precisar algunos conceptos requeridos en el ejercicio investigativo, teniendo en cuenta el orden descrito anteriormente, así:

Residuo Orgánico Biodegradable

Que se puede degradar o descomponer con el tiempo por la acción de los organismos del suelo. (Pérez, 2015)

Biomasa

La biomasa abarca todo un conjunto heterogéneo de materias orgánicas, tanto por su origen como por su naturaleza. En el contexto energético, el término biomasa se emplea para denominar a una fuente de energía renovable basada en la utilización de la materia orgánica formada por vía biológica en un pasado inmediato o de los productos derivados de ésta. (Fernández, 2003)

Aceite Microbiano

Los aceites de origen microbiano, también llamados aceites unicelulares, son producidos por algunos microorganismos como levaduras, bacterias, hongos y microalgas. Los microorganismos son capaces de acumular lípidos bajo ciertas condiciones específicas. (Calvache, 1993)

Biodiesel

El biodiesel es un combustible líquido producido a partir de materias renovables, como los aceites vegetales o grasas animales, que actualmente sustituye parcial o totalmente al diésel de petróleo en los motores diésel. Al usar este tipo de biocombustible en motores convencionales se reducen las emisiones de monóxido de carbono, óxidos de azufre, hidrocarburos aromáticos y partículas sólidas. (Ramírez, 2012)

Levadura Oleaginosa

Los microorganismos oleaginosos se definen como aquellos capaces de producir más de un 20% de su peso seco en lípidos, de entre ellos destacan las levaduras oleaginosas ya que pueden utilizar una gran variedad de fuentes de nutrientes, sus lípidos presentan una composición similar a la de los aceites vegetales comunes y tienen muchas aplicaciones potenciales, por ejemplo, como materia prima para la producción de biocombustibles. (Niehus, 2015)

Medio YPDA

El medio de cultivo YPDA, está compuesto por: Extracto de levadura 10 g/L (Scharlau), Peptona 20 g/L (OXOID), Glucosa 20 g/L (Scharlau), Agar-agar 15 g/L (Scharlau), y Cloranfenicol 0,2 g/L. (Hurtado, 2020)

11.3. Marco normativo

En la realización del proyecto de investigación se tomaron en cuenta todos los lineamientos legales colombianos vigentes que tienen relación con las actividades desarrolladas, se adoptaron las principales normas que reglamentan lo relacionado al manejo de residuos orgánicos, su disposición, uso y aprovechamiento, así como cualquier actividad adicional del proyecto que puede tener una interacción con el ambiente como se aprecia en la *tabla 1*.

Tabla 1*Decretos y leyes que rigen al proyecto*

Normativa	Descripción	Aporte a la investigación
Decreto 4741 de 2005 Autor: Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial	Define a los residuos peligrosos como aquellos residuos o desechos que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables, infecciosas o radiactivas pueden causar riesgos, daños o efectos no deseados, directos o indirectos, a la salud humana y el ambiente	En la práctica de laboratorio se manejaron diversos reactivos y sustancias biológicas las cuales son referenciadas en la presente normativa, además, se tuvo en cuenta para llevar a cabo su correcta disposición final.
Decreto 3930 de 2010 Autor: Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial	Reglamenta el Título I de la Ley 9 de 1979 y Ley 2811 de 1974 frente al uso del agua, residuos líquidos y el ordenamiento del recurso hídrico, así como las reglamentaciones para los vertimientos al agua, al suelo y a los alcantarillados.	Esta normativa se tomó en cuenta a la hora de las prácticas experimentales en el laboratorio, además, se tuvo en cuenta para llevar a cabo su correcta disposición final.
Ley 1715 de 2014 Autor: Congreso de la república de Colombia	Establecimiento del marco legal y los instrumentos para la promoción del aprovechamiento de las fuentes convencionales de energía.	Para dar cumplimiento al objetivo general, y debido a que se propone una alternativa de energía más limpia este fue la ley principal que rigió sobre el proyecto.
Decreto 351 de 2014 Autor: Ministerio de salud y protección social	Expide la reglamentación sobre la gestión integral de los residuos que se generen en la atención en salud y general todas las actividades que hagan generación, identificación, separación, empaque, recolección, transporte, almacenamiento, aprovechamiento, tratamiento o disposición de residuos en Colombia.	Al momento en que se realizó el aprovechamiento y la transformación de los residuos orgánicos de la plaza de frutas y verduras, además, del acompañamiento y/o propuesta para la adecuada gestión de residuos sólidos orgánicos en la plaza de mercado Frutas y Verduras Doña Yady.

<p>Decreto 2412 de 2018</p> <p>Autor: Ministerio de vivienda, ciudad y territorio</p>	<p>Reglamenta parcialmente el artículo 88 de la Ley 1753 de 2015, en lo referente al incentivo al aprovechamiento de residuos sólidos y se dictan otras disposiciones.</p>	<p>Al momento en que se realizó el aprovechamiento y la transformación de los residuos orgánicos de la plaza de frutas y verduras, además, del acompañamiento y/o propuesta para la adecuada gestión de residuos sólidos orgánicos en la plaza de mercado Frutas y Verduras Doña Yady.</p>
<p>Ley 2036 de 2020</p> <p>Autor: Congreso de la república de Colombia</p>	<p>Definición de los proyectos de generación de energías renovables alternativas que serán financiados.</p>	<p>Esta ley promueve la participación de las entidades territoriales en los proyectos de generación de energías alternativas renovables, aplicando a la temática del proyecto.</p>

11.4. Marco geográfico

El proyecto se llevó a cabo en la localidad de Engativá de la ciudad Bogotá, Colombia, está ubicada al noroccidente de la capital y limita al norte con el río Juan Amarillo, el cual la separa de la localidad de Suba, al Oriente está bordeada por la Avenida 68, límite con la localidad de Barrios Unidos; al sur con la Avenida Jorge Eliécer Gaitán o Autopista El Dorado y el antiguo camino a Engativá, el que la separa de Fontibón y al occidente limita con el Río Bogotá. Cuenta con tres humedales: (La Florida, Jaboque y Santa María del Lago). Tiene una extensión de 3.612 hectáreas, que corresponde a 4,18% del área del Distrito Capital; por su extensión es la décima localidad del Distrito Capital y cuenta con 892.169 habitantes (Bogotá cómo vamos, 2020). De este modo, “Frutas y verduras Doña Yady” es una plaza de mercado situada sobre la carrera 99ª y el parque salinas, en el barrio Álamos Norte de dicha localidad, Colombia conformada por cuatro carpas grandes como se evidencia en la *figura 2*, está a cargo de la señora Ana Yadira Morales Montaña, llevan ubicados en este lugar 15 años, desde que la Alcaldía Mayor de Bogotá por medio del plan Mercados Móviles les otorgó una reubicación (antes estaban situados en la plaza de las ferias), así mismo, les permitió sacar Registro Individual de Vendedor Informal (RIVI) ante el IPES o Instituto para la economía social, el cual les permite ser reconocidos como vendedores en espacio público de una localidad específica, manejan un horario desde las 3 am cuando surten el negocio

en abastos hasta las 7 pm que cierran, los residuos orgánicos que más generan son las moras y las fresas debido a que presentan un alto grado de descomposición de un día para otro, el almacenamiento y la disposición final de sus residuos lo llevan a cabo por medio de costales, cajas y estibas que van directo al camión recolector como se evidencia en la *figura 3*, este sitio es de interés debido a que las frutas y verduras están expuestas a grandes cantidades de transeúntes y automóviles.

Figura 2.

Coordenadas plaza de mercado Frutas y verduras Doña Yady



Fuente: Google Maps (2021)

Figura 3.

Carpas y disposición de residuos orgánicos Frutas y verduras Doña Yady



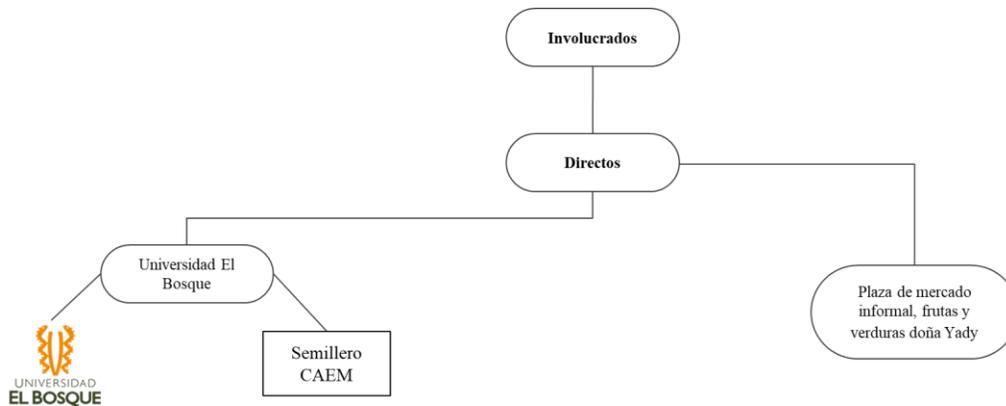
11.5. Marco institucional

Para el proyecto de investigación se tuvo involucrados directos e indirectos, los cuales permitieron que el proyecto se llevara a cabo cumpliendo la totalidad de sus objetivos, los cuales, facilitaron instalaciones de aprendizaje y exploración, recolección de residuos orgánicos generados como materia prima, equipos, materiales e instrumentos, facilitando el correspondiente análisis de laboratorio necesario para la

obtención de los resultados esperados, de este modo, los involucrados directos son la Universidad el Bosque como lugar de investigación y apoyo, el semillero de investigación CAEM como grupo de apoyo investigativo y de financiamiento y la plaza de frutas y verduras Doña Yady como sitio de extracción de los residuos orgánicos utilizados.

Figura 4

Organigrama instituciones involucradas en el proyecto



12. Metodología

Para esta sección del trabajo de investigación se diseñó la matriz metodológica compuesta por cada uno de los objetivos planteados, esto teniendo en cuenta la naturaleza del problema identificado. De este modo, se estableció un enfoque cuantitativo con alcance deductivo, además de tres métodos de investigación (exploratorio, correlacional y explicativo), los cuales corresponden a cada uno de los objetivos específicos en ese orden respectivamente. Las técnicas e instrumentos se seleccionaron para alcanzar los resultados esperados, por lo tanto, para el objetivo uno se llevó a cabo un análisis documental, seguido de observación y entrevista personal, además de investigaciones con su respectivo análisis, para el segundo objetivo se continuó con investigaciones y para el objetivo tres se ejecutaron las investigaciones finales con su respectivo análisis, tal como se evidencia en el *anexo c*.

12.1. Enfoque

Se definió un enfoque **cuantitativo**, ya que este usa la recolección y el análisis de datos para contestar una pregunta de investigación, confía en la medición numérica, pretende generalizar los resultados de sus estudios mediante muestras representativas, mide y define las variables en un determinado contexto, se asocia con experimentos y es el más utilizado en las ciencias exactas (Vega-Malagón et al., 2014). De

este modo, este proyecto de grado se desarrolló de forma secuencial y probatoria, partiendo de un planteamiento de una problemática específica hasta las conclusiones, la recolección de datos se fundamentó en la medición a cabo de procedimientos estandarizados y se concluyó de acuerdo con los análisis cuantitativos.

12.2. Alcance

Se empleó un alcance *deductivo*, que se asocia directamente al enfoque cuantitativo mencionado anteriormente y este presenta tres momentos de la deducción: 1) Axiomatización (1er principio) se parte de axiomas; verdades que no requieren demostración, 2) Postulación se refiere a los postulados, doctrinas asimiladas o creadas y 3) Demostración, referido al acto científico propio de los matemáticos, lógicos, filósofos (Dávila Newman, 2006). A partir de esto el primer momento de esta investigación partió de la verdad Todas las células vivas están constituidas por un cierto contenido de lípidos, como componente estructural o de reserva, pero no todos los microorganismos pueden ser considerados como fuente de aceites y grasas. Dentro de los microorganismos oleaginosos se incluyen las levaduras, capaces de producir y acumular por lo menos el 20% de su peso seco en lípidos, generalmente en forma de triglicéridos (TGC) (Arcos Velasco, 2020). Seguido a esto, se postuló un medio orgánico que permitiera el crecimiento de cepas de levaduras oleaginosas y la acumulación de lípidos como precursor de biodiesel y se demostró por medio de la cantidad de aceite microbiano recolectado.

12.3. Método

En cuanto a los métodos de investigación, se llevaron a cabo el *exploratorio, correlacional y explicativo* en dicho orden para cada objetivo respectivamente. En el primer objetivo respondió al método exploratorio analizando fenómenos novedosos, como lo son las cepas de levaduras oleaginosas aisladas de residuos orgánicos provenientes de una plaza de mercado informal, por otro lado el segundo objetivo se relacionó con el método correlacional debido a que se buscó conocer la relación o grado de asociación entre dos o más variables, específicamente la cantidad de lípidos acumulados dependiendo del medio inductor usado ya sea orgánico o industrial y finalmente, el tercer objetivo fue explicativo ya que concluyó cual fue el mejor medio de cultivo, y se cuantificó la biomasa acumulada necesaria para la producción de biodiesel.

12.4. Técnicas e instrumentos

Para el primer objetivo se tuvo en primer lugar un *análisis documental* para la recuperación de información inicial y la delimitación del sitio de muestreo, luego para las visitas del lugar de estudio se llevó a cabo la *observación*, para la determinación del peso de los costales con residuos orgánicos, selección del residuo orgánico, aislamiento y caracterización de la cepa de levadura oleaginososa se llevó a cabo *investigación y análisis*, repitiendo la última técnica mencionada para el paso dos y el tres.

12.5. Procedimiento

12.5.1. Delimitación del lugar y sitio de muestreo

En la localidad de Engativá se seleccionó el barrio Álamos Norte el cual cuenta con una plaza de mercado informal llamada “Frutas y verduras Doña Yady” ubicada sobre la Carrera 99A, posteriormente se recolectó una gran muestra de residuos orgánicos las cuales corresponden a estado de descomposición, dicha muestras se alojaron en una bolsa y se registró el día, la hora y en qué lugar de la plaza de mercado se encontraba.

12.5.2. Preparación del zumo y aislamiento de levaduras

El zumo de los residuos orgánicos se preparó agregando 10 gramos de los residuos triturados en 3 frascos HIT de 90 mililitros de solución salina al 0,85%. Se realizaron 5 preparaciones de cada zumo en tubos de ensayo. Para cada preparación diferente se hizo un muestreo, en cada uno de estos, se realizaron diluciones seriadas (desde 10^{-1} hasta 10^{-5}) y aislamiento en medio de cultivo YPDA (10 g/L extracto de levadura, 20 g/L peptona micológica, 20 g/L de glucosa, 15 g/L agar) suplementado con 25 mg/L de cloranfenicol, y en medio de cultivo Sabouraud de 65 g/L. Las placas se incubaron a 30°C por 4 días y posteriormente se aislaron las colonias más representativas (Mambuscay et al., 2013).

12.5.2.1 Segundo aislamiento de colonias representativas

En 10 medios de cultivo YPDA se aislaron con un asa de siembra las colonias más representativas de la primera siembra las cuales tuviesen distintas características de color y textura para su posterior codificación con el fin de obtener colonias anexas.

12.5.3. Acumulación y extracción de lípidos medio industrial

Con un asa de siembra se tomaron diversas colonias representativas crecidas en medio YPDA de la segunda siembra y se depositaron en 2000 mL de medio inductor para la acumulación de lípidos con una proporción Carbono/ Nitrógeno 100:1 (KH_2PO_4 0,1% p/v, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,05% p/v, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,05% p/v y Glucosa 5% p/v). los 2000 mL repartidos por 100 mL en 20 Erlenmeyer de tapa rosca, El cultivo fue crecido a temperatura ambiente durante 72 horas en agitación constante (150 rpm) (Arcos Velasco, 2020). Finalizado el tiempo de crecimiento, se adiciono 1 mL de cultivo crecido del medio inductor en 20 microtubos de 2 ml, se hizo el proceso de centrifugación a 12000 rpm durante 10 minutos y se descartó el sobrenadante. Se adiciono 0,1 mL de hexano y 0,5 mL de metanol y se resuspendió en vortex. Seguidamente, se expuso la biomasa resuspendida en ultrasonido a 50 kHz por 10 minutos. Posteriormente se adicionaron 0,5 mL de hexano, se mezcló en vórtex y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos en el shaker. Posteriormente, se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos para separación de fases. Por último, se recuperó la fase superior (hexano) con ayuda de una micropipeta y se transfirió a unos microtubos cónicos previamente pesados. Estos tubos se dejaron en el horno de secado a 70°C, que corresponde al punto de ebullición del hexano, durante 24 horas, después, se procedió a pesar y a registrar el peso final (Arcos Velasco, 2020).

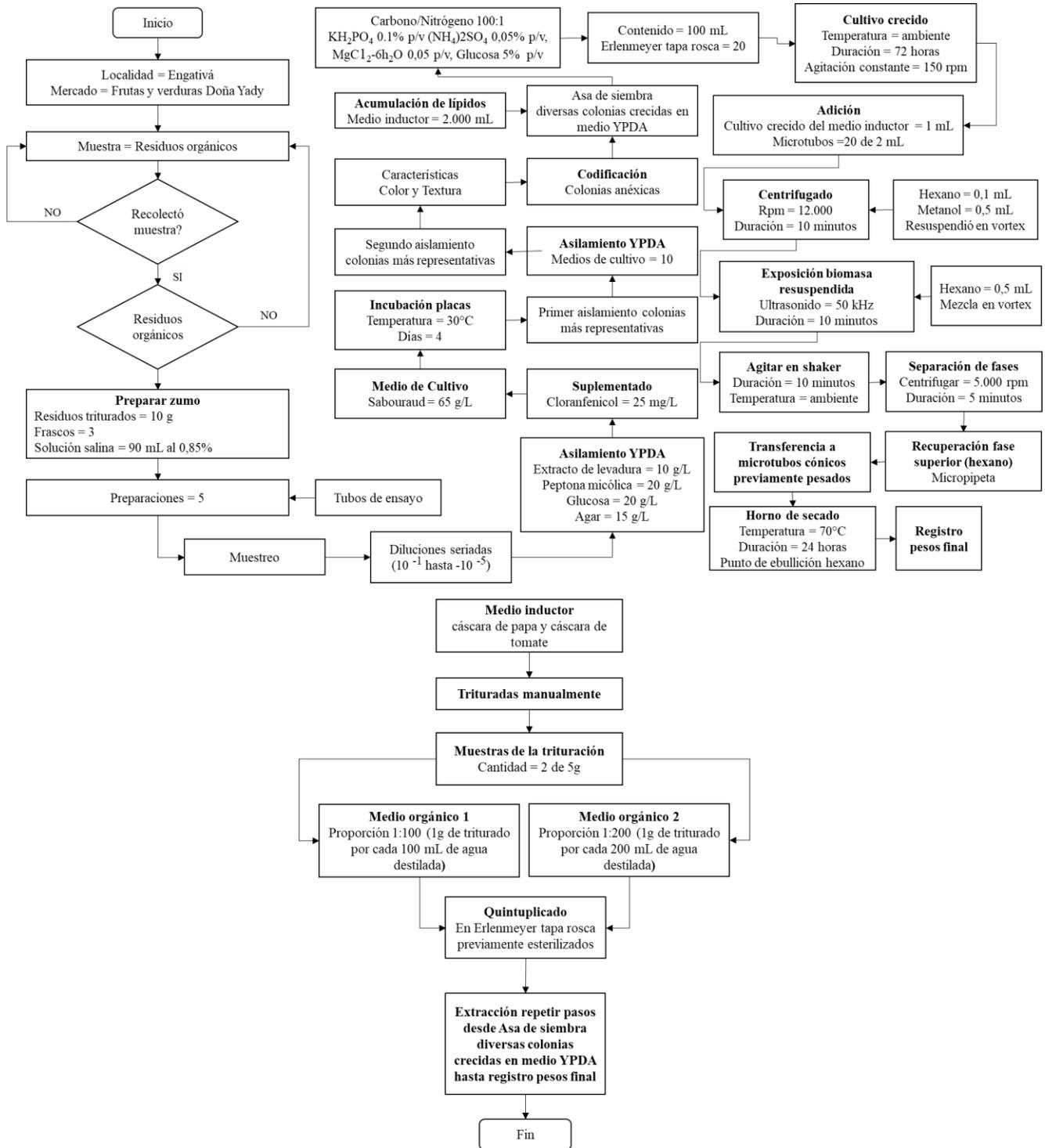
12.5.4. Acumulación y extracción de lípidos medio orgánico

El medio inductor orgánico, se realizó a base de residuos de cáscara de papa y cáscara de tomate, ambas cáscaras fueron trituradas manualmente, tomando 2 muestras de 5 g de la trituración, se realizaron dos tipos de medio orgánico uno con una proporción 1:100 (1 g de triturado por 100 mL de agua destilada) y 1:200 (1 g de triturado por 200 mL de agua destilada) ambos tipos de medio orgánico se realizaron por quintuplicado en Erlenmeyer tapa rosca previamente esterilizados. Para la extracción se llevó a cabo el mismo procedimiento descrito en el apartado 12.5.3

12.5.5. Diagrama de flujo metodología

Figura 5

Diagrama de flujo metodología



13 Aspectos Éticos

Para el desarrollo de este trabajo de investigación no se realizó ningún tipo de pruebas en humanos, ni se recolectó información personal que afecte la integridad física o moral del individuo, así mismo no se utilizó ningún tipo de animal para llevar a cabo pruebas dentro de la investigación.

14 Resultados

Objetivo específico 1.

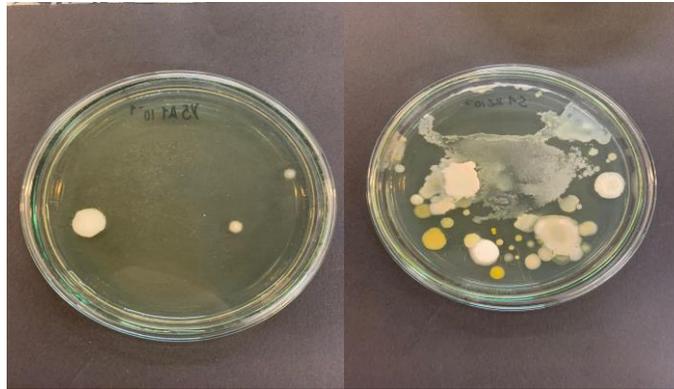
Para la selección de residuos orgánicos inicialmente se realizó una revisión de bibliografía de estudios similares en los que emplearon residuos orgánicos para la obtención de levaduras oleaginosas, se tomaron como principal referencia 2 estudios de similar enfoque, temática y metodología, en los que se puntualizará la obtención de biomasa y sustratos para la conversión de biomasa en biocombustible o biogás. Los 2 estudios mencionados son uno de carácter internacional y otro nacional, de principal aporte se tuvo a (Cho et al, 2018) Biodiesel production by various oleaginous microorganisms from organic wastes en donde se utilizaron diversos tipos de residuos orgánicos, destacando el uso de extractos de frutas con alto contenido de fructosa, glucosa y xilosa como la pulpa de la *Cassia fistula*, y como segunda referencia se tuvo a (Hurtado et al, 2020) *Determinación de actividad pectinolítica en microbiota levaduriforme asociada a suelos y frutos del Valle del Cauca*. en donde se usaron residuos provenientes del lulo, borjón, banano, chontaduro y guayaba, frutos propios de la región del Valle del Cauca, con el objetivo de aislar la microbiota levaduriforme que tiene el potencial de producir etanol.

Se seleccionó la plaza de frutas y verduras Doña Yady, puesto que esta plaza no cuenta con una regulación y enmarca una de las problemáticas más críticas de la ciudad de Bogotá que es el manejo inadecuado de los residuos orgánicos, la plaza contaba con una acumulación de residuos al aire libre y a la luz del sol, escenario que resultó idóneo para realizar una gestión y aprovechamiento de estos residuos. Cabe resaltar que estos residuos pueden llegar a generar vectores transmisores de enfermedades (Plaza et al, 2011), por lo que este estudio es de gran aporte para contrarrestar estas problemáticas de salubridad.

En campo se seleccionaron los residuos que estuvieron sujetos a disponibilidad, entre estos se encontraron los residuos de cáscara de papa, cáscara de maíz, cáscara de auyama, lechuga, perejil, calabacín, pimentón y tomate, los cuales se trituraron y diluyeron en solución salina para su posterior siembra que resultó exitosa y se evidencia en la siguiente *figura 6*.

Figura 6.

Crecimiento microbiológico en medio YPDA y Sabouraud



Después de realizar el procesamiento de los residuos en el que se aislaron las levaduras en los medios de cultivo YPDA y Sabouraud (Mambuscay et al, 2013) se realizó el conteo de colonias crecidas, de esto se obtuvo la tabla 1 la cual muestra la cuantificación de microorganismos en UFC/ml, es preciso aclarar que en la tabla 1 se evidencian únicamente los medios de cultivo YPDA y Sabouraud, que tuvieron un crecimiento representativo para el ejercicio académico ya que hubo medios de cultivo que no presentaron crecimiento los cuales fueron descartados (Y4, Y5, Y7 y Y9). Finalmente, se realizó la caracterización macroscópica de la primera siembra que se evidencia en el encabezado de la tabla 2. Cabe resaltar que las cajas de Petri se codificaron como S# para Sabouraud y Y# para YPDA.

Tabla 2.

Registro de UFC/mL para medios de cultivo

Identificación frasco jugo HIT	Agar Sabouraud				Agar YPDA			
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵
R1	224	209	120	129	3	3	-	-
	UFC/mL (S1)	UFC/mL (S2)	UFC/mL (S3)	UFC/mL (S4)	UFC/mL (Y3)	UFC/mL (Y8)		
R2	127	121	43	70	5	2	2	12
	UFC/mL (S7)	UFC/mL (S8)	UFC/mL (S5)	UFC/mL (S6)	UFC/mL (Y6)	UFC/mL (Y10)	UFC/mL (Y1)	UFC/mL (Y2)
R3	90	118	104	-	-	-	-	-
	UFC/mL (S10)	UFC/mL (S11)	UFC/mL (S9)					

Las colonias obtenidas a partir de los residuos presentaron características morfológicas macroscópicas como color blanco, diversas tonalidades de rosa y amarillo y texturas lisas y cremosas. Durante el crecimiento de los microorganismos se lograron evidenciar cambios en las diversas tonalidades, en la pigmentación y tipos de crecimiento, siendo las más abundantes las de color blanco con textura lisa, amarilla con textura lisa, rosa con textura lisa y rosa pálido con textura lisa, estas fueron codificadas y caracterizadas más adelante.

Posteriormente se tomaron las levaduras y se sembraron en medio de cultivo sólido YPDA y Sabouraud con el fin de obtener colonias axénicas. Seguido a esto, se realizó la codificación de las colonias más representativas y de características levaduriformes tomando en cuenta la metodología expuesta por (Hurtado et al, 2020), se codificaron en todos los medios de cultivo y se categorizaron en blanca, amarilla, rosa y rosa pálido, en cada medio de cultivo se marcaron cada una de las colonias por medio del código Y#-# o S#-#, el primer numeral después de la letra corresponde al número del agar que se aprecia en la tabla 1 y el numeral después del guión hace referencia al número de colonia crecida en el agar, es preciso aclarar que se eligió la colonia con mejor pigmentación y con mejor ubicación de cada tipo de categoría siguiendo lo expuesto por parte del estudio de (Arcos Velasco, 2020) que explica que la diversidad de cepas o las condiciones del cultivo pueden alterar la producción de lípidos, esto con la finalidad de no contar dos veces la misma característica fuera blanca, amarilla, rosa o rosa pálido tal como se ve en la figura 7, de este modo, se obtuvo la tabla 3.

Figura 7.

Ejemplificación de codificación de colonias

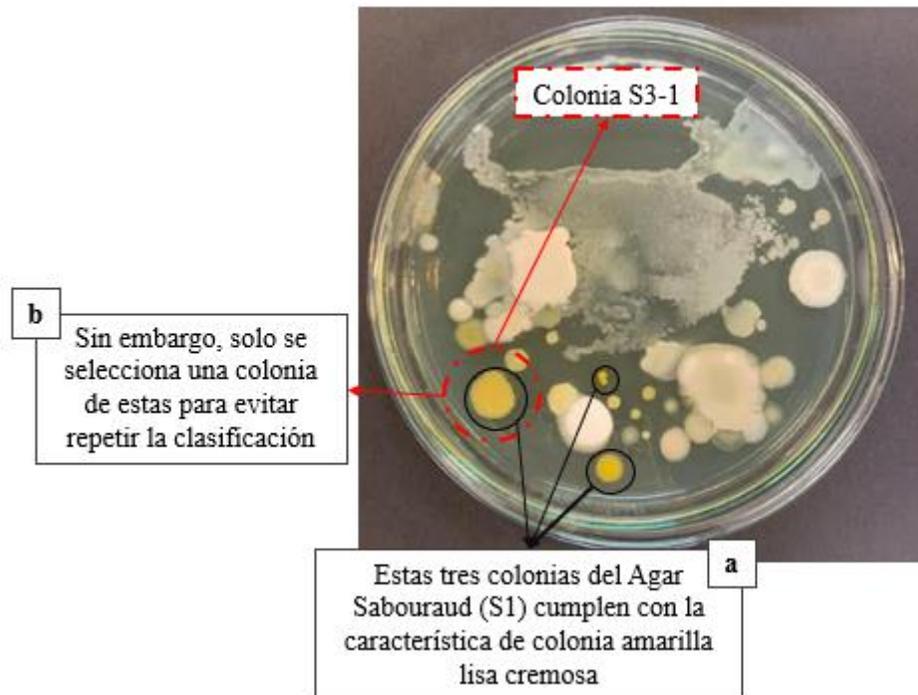


Tabla 3.

Registro de crecimientos por características morfológicas

Colonia blanca lisa cremosa		Colonia amarilla lisa cremosa		Colonia rosa lisa cremosa		Colonia rosa pálido lisa cremosa
Agar YPDA	Agar Sabouraud	Agar YPDA	Agar Sabouraud	Agar YPDA	Agar Sabouraud	Agar Sabouraud
Y1-1	S1-4	-	S3-1	-	S1-1	S10-2
Y2-1	S2-2	-	S4-1	-	S2-1	-
Y3-1	S3-2	-	S5-2	-	S5-3	-
Y4-1	S4-2	-	S7-1	-	S6-2	-
Y5-1	S5-1	-	-	-	S8-1	-
-	S6-1	-	-	-	-	-
-	S7-2	-	-	-	-	-
-	S8-2	-	-	-	-	-

-	S10-1	-	-	-	-	-
---	-------	---	---	---	---	---

Nota: Ciertos medios de cultivo contenían un crecimiento no levaduriforme muy cercano a las colonias que hubiesen sido de utilidad, por lo que fueron descartados los S9 y S11.

Se seleccionaron las codificaciones Y1-1 (Pigmentación blanca), S2-1 (Pigmentación rosa), S4-1 (Pigmentación amarilla) y S10-2 (Pigmentación rosa pálido) las cuales obtuvieron la mejor pigmentación y fueron seleccionadas para la identificación de características microscópicas y ser sembradas nuevamente buscando prevenir una contaminación de otra especie microbiana presente en los medios de cultivo. Esta segunda siembra se realizó nuevamente en 20 medios de cultivo YPDA, se seleccionó únicamente este medio ya que sus proporciones de reactivos favorecieron el crecimiento levaduriforme con prevención de crecimiento de otras especies microbianas que pudiesen llegar a contaminar o ejercer competencia con las levaduras. Desde esta segunda siembra se prosiguió con la metodología.

Objetivo específico 2 y 3.

Para el medio inductor sintético se evidencio que la única sepa que obtuvo crecimiento en medio líquido fue la S10-2, correspondiente a la textura cremosa lisa y a la pigmentación rosa pálido, esta cepa en medio líquido contaba con una tonalidad espesa que las demás cepas inoculadas no tenían, señalando un crecimiento evidente corroborado por la agitación manual del Erlenmeyer donde se veía el crecimiento acumulado en el centro, esta cepa se escogió para realizar la extracción y determinación de lípidos, así mismo la cepa S10-2 fue sembrada por tercera vez en medio sólido, para preservar las levaduras y prevenir contaminación, se realizó el proceso de inoculación tanto con la S10-2 como con las cepas Y1-1, S4-2 y S2-1, sin embargo la única que tuvo crecimiento significativo de lípidos a simple vista fue la cepa S10-2 con la que se continuó el proceso de extracción, las demás cepas contaban con una tonalidad clara y poco turbia donde no se identificaba crecimiento significativo, estas fueron aisladas y puestas para observación.

Obtenido el crecimiento en medio sólido por tercera vez de la cepa S10-2 se procedió a inocular nuevamente la cepa en medio inductor orgánico. En comparativa, la cepa creció más en el medio líquido que tenía una proporción de 1:100 ya que a diferencia de la concentración 1:200 se vieron unos Erlenmeyer más espesos y que con agitación se lograba ver el crecimiento acumulado en el centro.

Una vez finalizada la etapa de extracción y cuantificación de levaduras se obtuvieron los siguientes resultados:

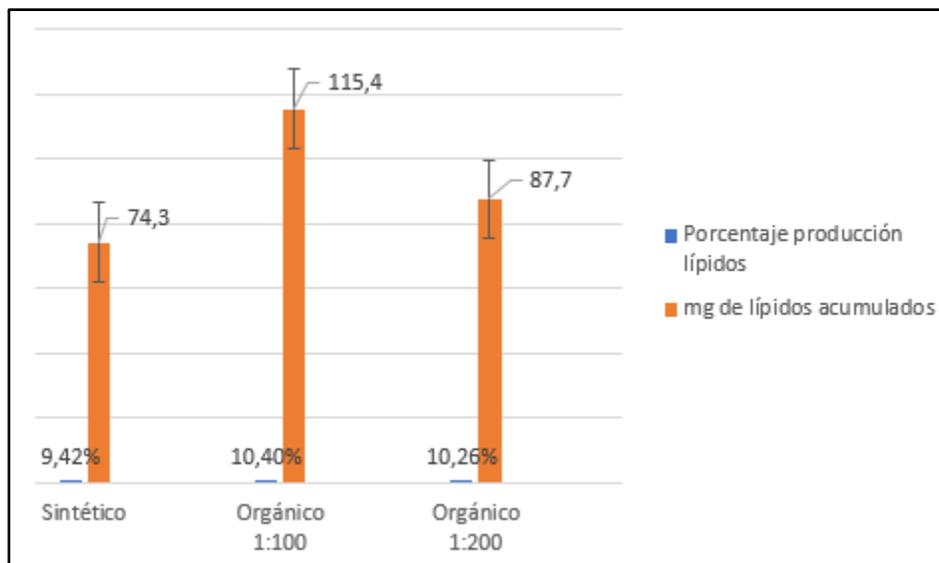
Tabla 4.

Producción de lípidos por medio inductor

Tipo de medio inductor	Producción de lípidos
Sintético	74,3 mg 9,421% de porcentaje de producción de lípidos
Orgánico 1:100	115,4 mg 10,40% de porcentaje de producción de lípidos
Orgánico 1:200	87,7 mg 10,26% de porcentaje de producción de lípidos

Figura 8.

Gráfica comparativa rendimiento de medios inductores industrial y orgánicos



La producción de lípidos se obtuvo restando el peso de los microtubos antes y después de ponerlos en el horno por 24 horas, en los primeros 20 microtubos de 2 mL correspondientes al medio inductor sintético se evidencio un crecimiento bajo luego de la centrifugación, pero que serían suficientes para la determinación de su peso final.

Para el medio inductor orgánico con proporción trituración/agua destilada 1:100 se notó un crecimiento en microtubos significativo comparado al medio sintético, que a simple vista se evidenciaban grandes proporciones de levadura extraída. Sin embargo, para el medio inductor orgánico con proporción 1:200 al tener una concentración menor no tuvo mayor crecimiento que la 1:100 pero sí obtuvo mejor crecimiento que el medio inductor sintético.

Revisando los valores obtenidos, se puede ver que el medio inductor orgánico de concentración 1:100 obtuvo un 14,25% más crecimiento comparado con el medio sintético, indicando que la inducción orgánica resulta ser más beneficiosa para la producción de lípidos y así tener un mejor rendimiento para obtener sustrato para la producción de biodiesel.

En cuanto a los resultados de otras investigaciones consultadas, se puede confirmar que el suplemento de materia orgánica, en este caso de cáscara de tomate y papa, estimula la producción de levaduras, así lo confirma (Chi et al, 2011) que en su investigación suplemento sus inducciones con residuos de comida, lo que significó un aumento de la producción lipídica por parte de las cepas trabajadas, en su caso la *Cryptococcus curvatus*.

15 Análisis y discusión

El campo de investigación sobre energías alternativas de origen renovable y la disminución de gases de efecto invernadero por medio del aprovechamiento de los desechos orgánicos presenta al biodiesel como una alternativa promisoría para el reemplazo de combustibles fósiles y la valorización energética de residuos orgánicos en diversas zonas de una ciudad o de un país (zonas urbanas, rurales y agroindustriales). Dicho combustible es considerado una fuente de energía alternativa sugerente ya que presenta una disponibilidad energética descentralizada, siempre y cuando existan fuentes de origen orgánico para su producción. De este modo, actualmente en el mundo se generan aproximadamente 1600 millones de toneladas por año de residuos sólidos, los cuales generan graves problemas, no solo por el

deterioro progresivo del ambiente, sino por el gran gasto económico asociado a la gestión integral de residuos, debido a los altos costos de recolección, transporte y disposición final que se encuentran en constante aumento. Se estima que dichos servicios efectuados a los residuos sólidos mueven mundialmente un mercado anual de 100.000 millones de dólares o sea 400.132.000,00 de pesos colombianos aproximadamente (Severiche Sierra & Acevedo Barrios, 2013).

Así pues, la mayor parte del comercio mayorista y minorista de productos agrícolas de consumo humano se lleva a cabo en las centrales de abasto de las ciudades colombianas. Los residuos sólidos que se producen diariamente en este sector son sobre todo de origen vegetal y están constituidos por frutas y verduras que no alcanzan la calidad necesaria para su comercialización debido, por ejemplo, a su alto estado de madurez; igualmente estos residuos están constituidos por diferentes estructuras vegetales de desecho (cáscaras, tallos, semillas, entre otros) (Severiche Sierra & Acevedo Barrios, 2013). Los polisacáridos contenidos en este tipo de materiales pueden ser aprovechados por medio de la transformación enzimática de los complejos amiláceos y celulósicos en azúcares que posteriormente son fermentados hasta alcohol u otros productos de valor agregado (Quintero Torres & Santos Mejía, 2020). Esto quiere decir que el crecimiento de microorganismos en frutas y vegetales suele ser visible en las superficies de estos, ya que al metabolizar algunos compuestos del producto agrícola se producen diversos metabolitos que ocasionan la descomposición de este, modificando las propiedades físicas, químicas y organolépticas de los alimentos, obteniendo consigo subproductos naturales de alto valor comercial.

Al colocar en práctica lo descrito anteriormente, se tomaron residuos en descomposición de tres tipos de cáscaras de vegetales, papa, maíz, auyama respectivamente, además, de vegetales completos tales como lechuga, perejil, calabacín, pimentón y tomate de la Plaza de Mercado Frutas y Verduras Doña Yady, las cuales son un sustrato con un alto contenido de agua (las levaduras obtienen casi todos los nutrientes disueltos en el agua que las rodea), abarcan un pH entre 5,55 a 6,99 (Casaubon-Garcín, y otros, 2018) el cual permitió la descomposición del azúcar, desaminación y descarboxilación de proteínas, también, al estar expuestos en una estiba con luz directa del sol la cual alcanzaba una temperatura aproximada de 25°C permitieron que se desarrollaran las condiciones intrínsecas necesarias para el crecimiento de dichos hongos.

Después de realizar la siembra de las levaduras en dos tipos de agares se evidenció que se produjo un mayor crecimiento de colonias en el Agar Sabouraud que en Agar YPDA, para resolver dicha incógnita fue necesario en primer lugar, tener claro los fundamentos de los dos tipos de agar, el Agar YPDA, tiene todos los componentes nutritivos para que los hongos y levaduras se desarrollen, el extracto de papa proporciona almidón, algo de lignina y otros minerales, la dextrosa (glucosa) es la fuente de carbono principal para los hongos y el agar es adicionado como agente gelificante (Avellaneda, 2012). Para inhibir el crecimiento de bacterias se suplementó al agar con el antibiótico cloranfenicol este es un bacteriostático de amplio espectro, interfiere en la síntesis proteica bacteriana. Así mismo, el Agar de Sabouraud Dextrosa 4% permite el crecimiento de hongos y levaduras, la peptona de la caseína y de la carne suministran todos los requerimientos nutritivos nitrogenados a los hongos, sin embargo, el único mecanismo de este agar para inhibir el crecimiento de bacterias es el pH de 5.4-5.8 (MERCK MILLIPORE, 2022). De este modo, el Agar Sabouraud al no ser un agar selectivo ni diferencial permitió un mayor crecimiento de microorganismos a comparación del Agar YPDA que cuenta con un inhibidor de crecimiento.

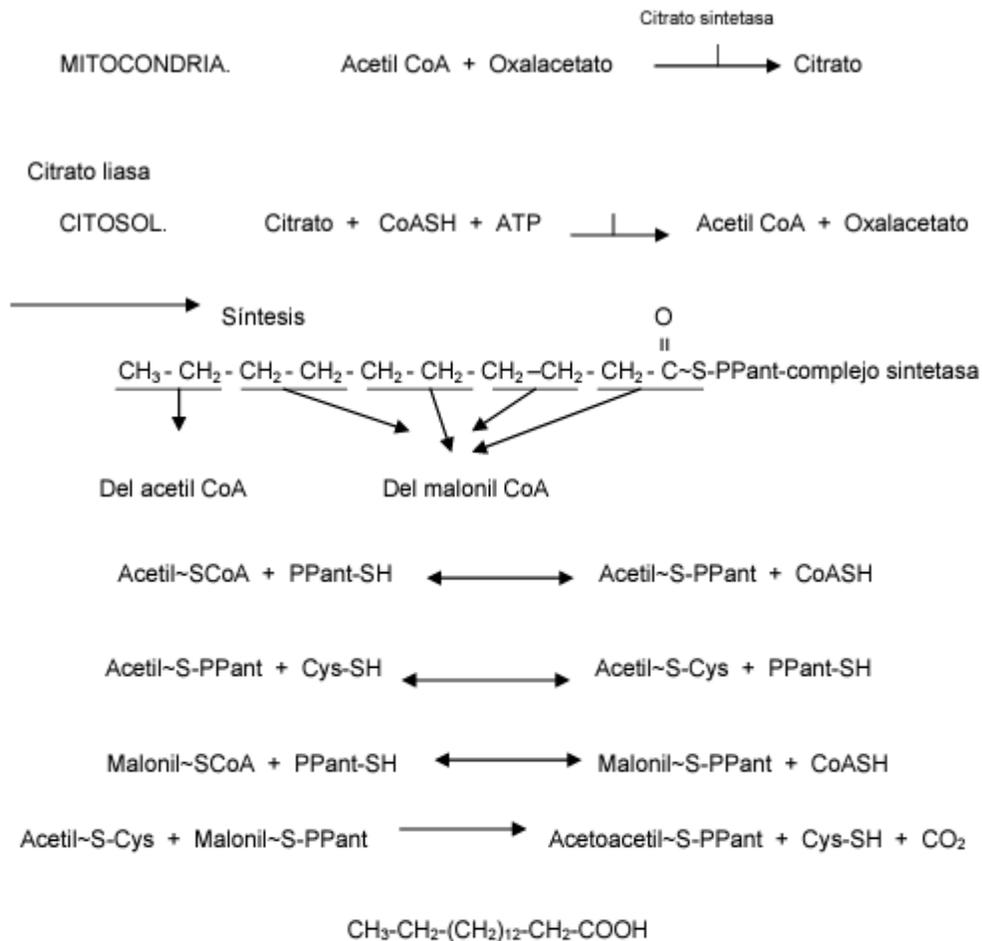
Por otro lado, los aceites microbianos se emplean como materia prima en la síntesis del biodiesel, estos se obtienen cuando las levaduras empiezan acumular lípidos después de que algún nutriente se agota, en este ejercicio académico se propusieron medios de cultivos industriales y orgánicos con una proporción Carbono/ Nitrógeno 100:1 esto produjo una producción de lípidos por exceso de carbono, esto quiere decir que cuando se agotó el nutriente limitante (nitrógeno), el excedente de carbono se transformó en reservas lipídicas (Martínez-Silveira, 2020). De este modo, la acumulación de lípidos puede ser a través de la síntesis de Novo usando sustratos como carbohidratos y glicerol, o la vía ex Novo con compuestos hidrófobos que también sirven como sustratos (Diwan et al. 2018).

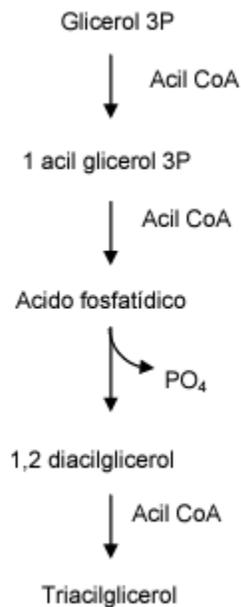
Con base en lo anterior, es preciso esbozar la ruta por la cual las levaduras oleaginosas desvían el flujo de carbono de la producción de energía para llevar a cabo la síntesis de lípidos. Este proceso se realiza por medio de la lipogénesis, es decir una serie de reacciones bioquímicas mediante las cuales el acetyl CoA, producto intermediario del metabolismo de la glucosa, se convierte en ácidos grasos. Dicho proceso inicia cuando se disminuye la concentración de monofosfato de intracelularadenosina (AMP) por el agotamiento del nitrógeno en el sustrato, lo que trae consigo la inhibición del isocianato deshidrogenasa (ICDH) que conduce a la acumulación de citrato en la mitocondria. El citrato se exporta al citoplasma,

donde es eliminado por la ATPcitrato liasa (ACL). El acetil-CoA está dirigido a la síntesis de Novo de ácidos grasos en el complejo de ácido graso sintasa (FAS). Los productos del complejo FAS, palmitoil-CoA y estearoil-CoA se transportan al retículo endoplásmico donde se usan para producir TGA, o someterse a desaturación dependiente de NADPH o / y una prolongación de dos carbonos antes de ser dirigidos a la síntesis de triacilgliceroles (TAG). La síntesis de TAG sigue la ruta de Kennedy para producir ácido lisofosfatídico (LPA), ácido fosfatídico (PA), diacilglicerol (DAG) y finalmente TAG que se almacenan en gotas de lípidos (Redón Miralles, 2010) tal como se presenta en las siguientes ecuaciones.

Figura 9.

Diagrama ecuaciones síntesis de novo (lipogenesis)





Nota: Adaptado (Troncoso Altamirano, 2017)

A grandes rasgos, de la anterior figura se puede inferir que la limitación de nitrógeno es la condición más eficiente para inducir la lipogénesis en levaduras oleaginosas. Durante la fase de crecimiento, el nitrógeno es necesario para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, mientras que el flujo de carbono se distribuye entre los procesos energéticos y anabólicos que producen carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas. Cuando el nitrógeno se limita, la tasa de crecimiento se ralentiza y la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos tiende a cesar. En especies no oleaginosas, el exceso de carbono permanece sin utilizar o se convierte en polisacáridos de almacenamiento. Por el contrario, las especies oleaginosas canalizan preferentemente el exceso de carbono hacia la lipogénesis y acumulan TAG dentro de los cuerpos lipídicos (Arcos Velasco, 2020).

En cuanto a la selección de cepas, se tomaron como referencia las especies obtenidas por (Hurtado et al, 2020) que mediante su caracterización morfológica macroscópica definió que las levaduras encontradas en los residuos de los frutos de lulo, borjón, banano, chontaduro y guayaba presentaban texturas lisas cremosas y pigmentaciones blancas, amarillas y rosas, resultados que coincidían con el crecimiento levaduriforme proveniente de los residuos de esta investigación. Además de este estudio, también se tomó como referencia el estudio realizado por (Filho et al, 2017) *Genetic diversity and pectinolytic activity of epiphytic yeasts from grape carposphere*, en el que se usó el fruto de uva para la determinación

de la actividad pectinolítica de las levaduras, en este estudio, en cuanto a las características morfológicas macroscópicas se obtuvo un crecimiento de pigmentaciones blancas, amarillas o salmón (Rosa pálido para esta investigación) y texturas lisas cremosas, nuevamente similar al crecimiento obtenido en esta investigación que permitió confirmar la presencia de levaduras oleaginosas y seleccionar estas para la posterior inoculación en medio inductor sintético y medio inductor industrial. Así mismo existen numerosos estudios relacionados con las levaduras oleaginosas y su capacidad de producción pectinolítica, en donde la selección de las levaduras crecidas tienen los mismos tipos de pigmentaciones y de texturas, como ejemplo podemos encontrar el estudio realizado por (Poondla et al, 2015) *Low temperature active pectinases production by Saccharomyces cerevisiae isolate and their characterization*, que obtuvo crecimientos con pigmentación blanca o rosa suave (o pálido para este estudio), y que concluye que ambas de estas características son positivas para actividad pectinasa.

Por otro lado, tomando en cuenta los resultados obtenidos para cada medio inductor, se obtuvo que el medio inductor orgánico fue más eficiente en términos de producción de lípidos que el medio inductor sintético, esto se puede deber a que el medio inductor sintético además de contener su base de glucosa contiene sulfato de amonio que según (Arcos Velasco, 2020) juega un papel importante en el crecimiento celular, mientras que no es adecuada para la producción de lípidos. Contrastando la producción de lípidos en medio inductor orgánico, el cual fue realizado con cáscara de tomate y cáscara de papa, resultó ser mayor en un 14,25% lo que indica que las proporciones de nitrógeno orgánico estimularon la producción de lípidos, además, cabe resaltar que la inducción de las levaduras al medio orgánico se hizo a través de solución salina al 0,85% y Arcos Velasco señala que la adición de sales tales como el NaCl llegan a estimular el crecimiento de triglicéridos TAG. Teniendo en cuenta esto, se puede decir que la concentración 1:100 llevó a producir más lípidos que la 1:200 debido a que contó con más sustrato en el medio.

Cabe resaltar que la cáscara de papa contiene un alto porcentaje de carbohidratos, humedad y grasa que resultan ser beneficiosos para la producción de lípidos en medio orgánico (Vega, 2020). En el caso de la cáscara de tomate o propiamente del fruto, según (García et al, 2009), la maduración del tomate comprende una serie de cambios físicos y químicos que ocurren en el fruto fisiológicamente maduro, estos cambios se deben a importantes transformaciones en la actividad enzimática en donde destaca la degradación del almidón y el aumento de los azúcares reductores. Los azúcares reductores son aquellos

que poseen un grupo carbonilo intacto entre los que se puede encontrar la glucosa, lactosa, fructosa, maltosa, galactosa o manosa, y que a través de este pueden reaccionar con otras moléculas (Moreano, 2015) acá se resalta que la glucosa es un sustrato fundamental para la producción de lípidos a través de levaduras. Estos sustratos se pueden evidenciar en metabolismo de la síntesis de lípidos en levaduras, ya que pueden llegar a influir en este, la adición de sales, y las condiciones del cultivo como la temperatura o el suministro de oxígeno ejercen una gran influencia en la acumulación de lípidos (Arcos Velasco, 2020).

16 Conclusiones y recomendaciones

Se logró inducir la cepa S10-2 en un medio inductor orgánico compuesto por cáscara de papa y cáscara de tomate, cepa de la cual se obtuvo sus características macroscópicas y su rendimiento de producción de lípidos en medio orgánico con concentración 1:100 que fue de 115,4 mg, esto resulta importante ya que a gran escala se puede obtener una producción significativa de lípidos que es el sustrato principal para la producción de biodiesel, lo que resultaría ser un proceso más económico y eficiente al tratarse del aprovechamiento de residuos orgánicos. Sin embargo, se recomienda que, con los resultados obtenidos en materia de cepas, se realice la caracterización molecular para obtener información complementaria de especies que abran más campos de investigación de producción lipídica por tipo de especie y que sirva de complemento para esta investigación.

Se determinó la producción de lípidos provenientes de levaduras oleaginosas presentes en los residuos orgánicos de cáscara de papa, cáscara de maíz, cáscara de auyama, lechuga, perejil, calabacín, pimiento y tomate, demostrando que la inducción en medio orgánico aumentó la actividad productiva de lípidos a comparación del medio sintético, la inducción orgánica al ser más costo eficiente, puede ser potencialmente utilizada en procesos industriales de obtención de biomasa, suponiendo una transición de combustibles fósiles a biocombustibles, no obstante, resulta necesario realizar futuros experimentos a gran escala para determinar la biomasa necesaria para suplir las necesidades energéticas que se tienen actualmente.

En cuanto al método de aislamiento, se evidenció que hubo más crecimiento microbiano en el medio Sabouraud, sin embargo el crecimiento en YPDA fue más selectivo, identificando que el potencial de producción de lípidos es mayor en las levaduras crecidas en YPDA ya que su crecimiento se dio en

condiciones más limitadas por la concentración de cloranfenicol, se recomienda analizar las proporciones de reactivos al detalle para obtener un medio de cultivo óptimo para el crecimiento levaduriforme.

Se comprueba que se pueden generar unas condiciones intrínsecas primarias en frutas y verduras necesarias para el crecimiento de levaduras oleaginosas asegurando valores de pH bajos, gran disponibilidad de agua además de una exposición directa al sol que no supere temperaturas de 25°C, dichas condiciones permiten que posteriormente se aislen y caractericen las levaduras en sus respectivos agares, además, al sembrar dichos hongos en medios sintéticos con proporción 100:1 Carbono/Nitrógeno se induce a una correcta lipogénesis que permite la acumulación de ácidos grasos. Por lo cual se sugiere ampliar el campo de investigación en la creación de medios orgánicos sólidos para la acumulación de lípidos, respetando dicha proporción (se debe analizar el contenido de nitrógeno y carbono en cada fruta y verdura a usar con la finalidad de efectuar correctamente la restricción de nutrientes en el sustrato).

Se sugiere para próximos estudios o investigaciones tener más detalle a las cantidades de reactivo a emplear así como lograr obtener unos cálculos más detallados en cuanto a los porcentajes de carbono/nitrógeno del material orgánico para la realización de los medios inductores, esto con el fin de obtener resultados más óptimos que evidencien de una manera más clara el contraste entre el medio inductor sintético al orgánico.

17. Referencias Bibliográficas.

Arcos Velasco, L. V. (2020). Selección y caracterización de levaduras oleaginosas aisladas a partir de sistemas acuáticos de la ciudad de Cali. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>

Avellaneda, J. (2012). Repositorio digital Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Obtenido de Evaluación del crecimiento y producción de biomasa de dos cepas del género *Pleurotus* spp. Cultivadas en un medio agar con diferentes sustratos: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Frepositorio.uteq.edu.ec%2Fbitstream%2F43000%2F4078%2F1%2FT-UTEQ-107.pdf&clen=3700272

Barnier González, F. (2016). La crisis energética. <https://www.portafolio.co/opinion/francisco-barnier-gonzalez/analisis-tesis-energetica-colombia-494003>

Bogotá cómo vamos. (2020). *Engativá*. Obtenido de

<https://bogotacomovamos.org/localidades/engativa/>

Casaubon-Garcín, P., Lamshing-Salinas, P., Isoard-Acosta, F., Lemen-Meyer, S. C., Delgado-Franco, D., & Pérez-Lizaur, A. B. (2018). pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con refl ujo gastroesofágico? *Revista Mexicana de PEDIATRÍA*, 89-94.

Castañeda-Torres, S., & Rodríguez-Miranda, J. P. (2017). Modelo de aprovechamiento sustentable de residuos sólidos orgánicos en Cundinamarca, Colombia. *Universidad y Salud*, 19(1), 116. <https://doi.org/10.22267/rus.171901.75>

Calvache, H. H. (1993). El control microbiano en el manejo de las plagas de palma de aceite en Colombia. *Revista Palmas*, 14(2), 13-21.

Chi, Z., Zheng, Y., Jiang, A., & Chen, S. (2011). Lipid production by culturing oleaginous yeast and algae with food waste and municipal wastewater in an integrated process. *Applied biochemistry and biotechnology*, 165(2), 442-453.

Cho, H. U., & Park, J. M. (2018). Biodiesel production by various oleaginous microorganisms from organic wastes. *Bioresource technology*, 256, 502-508.

Crónicas ONU. (s.f.). Naciones Unidas. El papel de los combustibles fósiles en un sistema energético sostenible. <https://www.un.org/es/chronicle/article/el-papel-de-los-combustibles-fosiles-en-un-sistema-energetico-sostenible>

Dávila Newman, G. (2006). El razonamiento inductivo y deductivo dentro del proceso investigativo en ciencias experimentales y sociales. *Laurus*, vol. 12, 180-205.

Diwan, B., Parkhey, P., & Gupta, P. (2018). From agro-industrial wastes to single cell oils: a step towards prospective biorefinery. *Folia microbiologica*, 63(5), 547–568. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0602-7>

Fernández, J. (2003). Energía de la biomasa. *Energías renovables para el desarrollo*. Thomson-

Paraninfo.

- Filho, M. C., Bertéli, M. B. D., Valle, J. S., Paccola-Meirelles, L. D., Linde, G. A., Barcellos, F. G., & Colauto, N. B. (2017). Genetic diversity and pectinolytic activity of epiphytic yeasts from grape carposphere. *Genet. Mol. Res.*, 20(16).
- Google Maps. (2021). Obtenido de <https://www.google.com/maps/@4.7008974,-74.1175807,3305m/data=!3m1!1e3?hl=es>
- Hermida Castillo, H. (2014). Congreso nacional del medio ambiente. <http://www.conama.org/conama/download/files/conama2014/CT%202014/1896711446.pdf>
- Hurtado Galindo, M., Otalvaro Hernández, D. V. (2020). Determinación de actividad pectinolítica en microbiota levaduriforme aislada a partir de suelos y frutos del Valle del Cauca (Doctoral dissertation, Universidad Santiago de Cali).
- INECOL. (2017). Sustrato orgánico para el crecimiento vegetal. El Instituto de Ecología. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2017-06-26-16-35-48/17-ciencia-hoy/1028-sustrato-organico-para-el-crecimiento-vegetal>
- ISTAS. (2019). El aprovechamiento de los residuos orgánicos resolvería muchos problemas ambientales y crearía empleo. Instituto Sindical de Trabajo. <https://istas.net/el-aprovechamiento-de-los-residuos-organicos-resolveria-muchos-problemas-ambientales-y-crearia>
- Mambuscay, L. A., López, W. A., Cuervo, R. A., Argote, F., & Osorio, E. (2013). Identificación de las levaduras nativas presentes en zumos de piña, mora y uva. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Edición Especial No. 2*, 136-144.
- Martínez-Silveira, A. (2020). Repositorio institucional Biblioteca de la Facultad Química Udelar. Obtenido de Utilización de subproductos industriales para la producción de levaduras oleaginosas como materia prima alternativa de biódiesel: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/ed0ddff91d>

370272cd5f05c0d0baa609.pdf

- Mateus Valencia, A. C. (2016). Crisis energética en Colombia. *Tecnología Investigación y Academia*, 4(2), 74–81. <http://revistas.udistrital.edu.co/ojs/index.php/tia/issue/archive>
- Medina Ramírez, I. E., Chávez Vela, N. A., & Jáuregui Rincón, J. (2012). Biodiesel, un combustible renovable. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 55, 62–70. <https://www.redalyc.org/pdf/674/67424409008.pdf>
- Melo Henríquez, A. I. (2019). *AIDIS Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Obtenido de Problemática ambiental por mal manejo de residuos sólidos domésticos en el municipio de Galapa: <https://aidisnet.org/wp-content/uploads/2019/07/463-Colombia-oral.pdf>
- MERCK MILLIPORE. (2022). Technical Data Sheet: Sabouraud-4 % Dextrose Agar. Obtenido de https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/SABOURAUD-40-0-dextrose-agar,MDA_CHEM-105438#anchor_TI
- Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible. (2012). Diagnóstico nacional de salud ambiental. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecaDigital/RIDE/INEC/IGUB/Diagnostico%20de%20salud%20Ambiental%20compilado.Pdf>, 368.
- Moran Mejía, A. F. (Febrero de 2020). Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Obtenido de Evaluación del crecimiento de la levadura oleaginosa *Clavispora lusitaniae* Hi2 y la producción de lípidos en un medio de cultivo formulado a partir de residuos agroindustriales: <https://www.upemor.edu.mx/posgrados/documentos/tesis/T.4137-Moran-Mejia-Aime-Frida.pdf>
- Moreano Pilatasig, M. M. (2015). Determinación de azúcares reductores y su relación con carbohidratos no absorbidos en niños (a) del centro de educación inicial “María Montessori” del cantón Latacunga en el período 2014-2015 (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato-Facultad de Ciencias de la Salud-Carrera Laboratorio Clínico).

Muñoz Quintero, R. D. (2012). Política de gestión integral de residuos orgánicos de la plaza de mercado La 21 en el municipio de Ibagué. <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10613/TRABAJO%20DE%20GRADO%20PDF.pdf?sequence=1>

Naciones Unidas. (2022). Crónica ONU. Obtenido de Objetivo 7—Garantizar el acceso a una energía asequible, fiable, sostenible y moderna para todos: <https://www.un.org/es/chronicle/article/objetivo-7-garantizar-el-acceso-una-energia-asequible-fiable-sostenible-y-moderna-para-todos>

Naciones Unidas. (2022). *Crónica ONU*. Objetivo 12—Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles: un requisito esencial para el desarrollo sostenible: <https://www.un.org/es/chronicle/article/objetivo-12-garantizar-modalidades-de-consumo-y-produccion-sostenibles-un-requisito-esencial-para-el>

Niehus, X., & Sandoval, G. (2015). Búsqueda y selección de levaduras oleaginosas para producir biocombustibles. <https://smbb.mx/congresos%20smbb/guadalajara15/PDF/XVI/trabajos/IX/IXC-24.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (s.f). Notas técnicas sobre agua, saneamiento e higiene en emergencias. [Nota-tecnica-sobre-agua-saneamiento-higiene-12.pdf](#)

Pérez Iglesias, H., Rodríguez Delgado, I., & Arzola Pina, N. (2015). Aprovechamiento sostenible de los residuos de origen orgánico y la zeolita en la agricultura.

Pérez Faife, E., Otero Rambla, M. A., & Álvarez Delgado, A. (2012). Producción de biodiesel a partir de microorganismos oleaginosos. Una fuente de energía renovable. Parte 1: Levaduras y bacterias. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, vol. 46, no. 1 (enero-abril), 22-32.

Plaza, G., & Zapata, O. (2011). Residuos y salud: Tartagal-Salta. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (16),

35-43.

Poondla, V., Bandikari, R., Subramanyam, R., & Obulam, V. S. R. (2015). Low temperature active pectinases production by *Saccharomyces cerevisiae* isolate and their characterization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(1), 70-76.

Quintero Torres, R. T., & Santos Mejía, D. (2020). Repositorio Institucional Unilibre. Obtenido de Evaluación de biogás producido, en un digestor anaeróbico, a partir de pulpa de café y residuos domésticos: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/19498/Trabajo%20de%20grado.pdf?sequence=1](https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/19498/Trabajo%20de%20grado.pdf?sequence=1)

Ramírez, I. E. M., Vela, N. A. C., & Rincón, J. J. (2012). Biodiesel, un combustible renovable. *Investigación y ciencia*, 20(55), 62-70.

Redón Miralles, M. A. (2010). Universitat Rovira I Virgili. Obtenido de Estudio global del metabolismo lipídico de *Saccharomyces* spp. en fermentaciones a bajas temperaturas: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/31915/tesi.pdf?sequence=2.txt](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/31915/tesi.pdf?sequence=2.txt)

Rodríguez, P. A., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166-167.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Beneficios de usar energías renovables. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/beneficios-de-usar-energias-renovables-172766>

Surendra, K. C., Olivier, R., Tomberlin, J. K., Jha, R., & Khanal, S. K. (2016). Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. *Renewable energy*, 98, 197-202.

Severiche Sierra, C. A., & Acevedo Barrios, R. L. (2013). Biogás a partir de residuos orgánicos y su

apuesta como combustibles de segunda generación. *Ingenium*, 6-15.

Troncoso Altamirano, H. (2017). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. Obtenido de Apuntes bioquímica unidad 9:

https://fmvz.unam.mx/fmvz/p_estudios/apuntes_bioquimica/Unidad_9.pdf

Union of concerned Scientists. (2018). Costos ocultos de los combustibles fósiles.

<https://es.ucsusa.org/resources/costos-ocultos-combustibles-fosiles>

Vega-Malagón, G., Ávila-Morales, J., Vega-Malagón, A. J., Camacho-Calderón, N., Becerril-Santos, A., & Leo-Amador, G. E. (2014). PARADIGMAS EN LA INVESTIGACIÓN. ENFOQUE CUANTITATIVO Y CUALITATIVO. *European Scientific Journal* vol.10, No.15, 523-52

Vega, N. P. (2020). Propiedades químicas, físicas y tecnofuncionales de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) para uso como extensor en productos cárnicos frescos picados.

Wynn, J., & Ratledge, C. (2005). Oils from microorganisms. En *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*

18. Anexos:

Anexo A

Preparación de medios de cultivo

A continuación, se muestran los cálculos usados para preparar los medios de cultivo, se partió con la relación de que una caja de Petri grande tiene un volumen de 20 mL, esto con la finalidad de determinar cuántos mililitros de medio de cultivo son necesario para 12 cajas Petri grandes. Seguido a esto, se procedió a preparar el medio de cultivo Sabouraud teniendo en cuenta que este es un medio formulado (tiene todos sus componentes integrados) por lo cual solo fue necesario determinar cuántos gramos de agar Sabouraud se necesitaban para los 240 mL determinados anteriormente. Seguido a esto se calculó la cantidad de sal necesaria en gramos para un volumen de 405 mL de agua destilada (dicho volumen es resultante de la sumatoria del total de tubos hit más el total de tubos 16 x 100), así mismo se tuvo en cuenta la relación p/v de una solución salina al 0,85%. Luego, se realizó el agar YPDA, este al ser un medio por componentes, fue necesario determinar la cantidad necesaria para cada uno de sus

constituyentes partiendo de las siguientes proporciones propias del medio (15g/L de agar, 20 g/L de peptona y dextrosa, además, 10 g/L de extracto de levadura). Por otro lado, lo anterior descrito se llevó a cabo por segunda vez para realizar la segunda siembra descrita en la metodología con la variación de que se inició el proceso con 20 cajas de Petri.

$$1 \text{ caja petri grande} \rightarrow 20 \text{ mL}$$

$$12 \text{ cajas petri grandes} \rightarrow x$$

$$x = 240 \text{ mL de medio}$$

Agar Sabouraud

$$65 \text{ g medio sólido} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \rightarrow 240 \text{ mL}$$

$$x = 15,6 \text{ g de Sabouraud}$$

Solución salina

$$\text{Frascos Hit (90 mL)} \rightarrow 3 \times 90 \text{ mL} = 270 \text{ mL}$$

$$\text{Tubos } 16 \times 100 \text{ (9 mL)} \rightarrow 15 \times 9 \text{ mL} = 135 \text{ mL}$$

$$270 \text{ mL} + 135 \text{ mL} = 405 \text{ mL}$$

$$\frac{0,85 \text{ g sal}}{100 \text{ mL}} \times 405 \text{ mL} = 3,44 \text{ g de sal}$$

Agar YPDA

Agar

15 g → 1000 mL

$x \rightarrow 240 \text{ mL}$

$x = 3,6 \text{ g}$

Peptona

20 g → 1000 mL

$x \rightarrow 240 \text{ mL}$

$x = 4,8 \text{ g}$

Dextrosa

20 g → 1000 mL

$x \rightarrow 240 \text{ mL}$

$x = 4,8 \text{ g}$

Extracto de levadura

10 g → 1000 mL

$x \rightarrow 240 \text{ mL}$

$x = 2,4 \text{ g}$

Cloranfenicol

25 mg → 1000 mL

$x \rightarrow 240 \text{ mL}$

$x = 6 \text{ mg}$

1 mg → 0,001 g

6 mg → x

$x = 0,006 \text{ g}$

Anexo B

Preparación medio inductor sintético

A partir de la metodología propuesta el medio inductor sintético estaba compuesto por KH_2PO_4 (Fosfato monopotásico) al 0.1% p/v, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de amonio) al 0,05% p/v, $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de

magnesio hexahidratado) al 0,05% p/v, C₆H₁₂O₆ (glucosa) al 5% p/v. Contemplando un total volumen de 2000 mL (esta cantidad se distribuyó 100 mL para cada 1 de los 20 Erlenmeyer). Finalmente, los valores reportados a continuación se dividieron en 2 con la finalidad de disponer la misma cantidad de gramos de compuestos en 2 frascos Schott.

$$\frac{0,1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2000 \text{ mL} = 2 \text{ g de } \text{KH}_2\text{PO}_4$$

$$\frac{0,05 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2000 \text{ mL} = 1 \text{ g de } \text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$$

$$\frac{0,05 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2000 \text{ mL} = 1 \text{ g } (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$$

$$\frac{5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 2000 \text{ mL} = 100 \text{ g } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$$

Anexo C

Cálculos de porcentaje de grasas:

$$\% \text{ de grasa} = \frac{(\text{vaso} + \text{grasa}) - \text{vaso vacío}}{\text{g muestra}} \times 100$$

De donde:

Vaso + grasa = peso en gramos del vaso más la muestra

Vaso vacío = peso en gramos de vaso vacío

g muestra = peso de la muestra en gramos

Se reporta en %

Al hacer uso de la fórmula descrita anteriormente se obtuvieron 3 resultados, el % de grasa para el medio sintético, para el medio orgánico 1:100, para el medio orgánico 1:200 respectivamente, para calcular dicho porcentaje, se inició determinado el valor del vaso vacío para esto se tuvo en cuenta que el peso de 1 microtubo desocupado tiene un peso de 1012,0 mg, este valor se multiplicó por 20 microtubos que fueron usados para cada prueba, además, para el vaso + grasa se sumó el valor total del vaso vacío más el peso de la grasa de cada experimento, tal como se presenta a continuación.

$$\text{Peso vacío microtubo} = 1012,0 \text{ mg} \cdot 1 / (1000 \text{ mg}) = 1,0102 \text{ g}$$

$$\text{Peso total microtubos} = 1,01 \text{ g} \times 20 = 20,24 \text{ g}$$

$$\% \text{ medio sintético} = \frac{(20,31 \text{ g} - 20,24 \text{ g}) \times 100}{(0,743 \text{ g})} = 9,421 \%$$

$$\% \text{ medio orgánico 1:100} = \frac{(20,36 \text{ g} - 20,24 \text{ g}) \times 100}{(1,154 \text{ g})} = 10,40\%$$

$$\% \text{ medio orgánico 1:200} = (20,33 \text{ g} - 20,24 \text{ g}) \times 100 / (0,877 \text{ g}) = 10,26\%$$

Se comprueba que se obtuvieron % mayores a los reportados por Arcos Velasco, 2020, ya que dicho autor por método hexano-metanol obtuvo 8,66 % m/m para la cepa MB6, sin embargo, este potenció dicho resultado por el método con acetona, de este modo, para próximas investigaciones se recomienda llevar a cabo los dos métodos para alcanzar un mayor porcentaje lipídico.