

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

ANALES

DE LA

FACULTAD DE
QUIMICA Y FARMACIA



VOL. 4

1 9 5 5

HERALDO J. BIANCHI
Ingeniero Químico

PROCEDIMIENTO BIOLÓGICO PARA EL APROVECHAMIENTO DE LAS VINAZAS DE DESTILERIA

PIERRE BÉRAUD, NÉSTOR TORRES
y DIEGO J. VILLEGAS

División Investigaciones Científicas (A. N. C. A. P.)

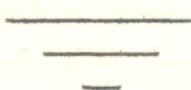
RESUMEN

La solución más simple al problema de la utilización de las vinazas sería su empleo para el riego de plantaciones.

Lamentablemente, ciertas vinazas como las de caña y ron, son poco a poco, nocivas para la vegetación.

Un tratamiento de 48 horas por una levadura apropiada, quita a la vinaza las sustancias que la vuelven nociva para las plantas. La vinaza así purificada, empleada en irrigación, constituye un excelente abono.

La levadura proveniente del tratamiento de la vinaza, recuperada por centrifugación, puede ser utilizada con éxito como fuente de proteínas y vitaminas en la alimentación de aves.



La evacuación de vinazas ha sido siempre una fuente de inconvenientes para los destiladores. La manera más simple de desembarazarse de esos líquidos es evidentemente, verterlos en un curso de agua. Pero entonces, a menos que se trate de un río de gran caudal, el resultado habitual es el agotamiento del oxígeno disuelto en el agua por las materias orgánicas de la vinaza, agotamiento que provoca la muerte de todos los seres aerobios existentes en el río, con producción de olores desagradables.

Además, el arrojar las vinazas en un curso de agua no es económico; se pierden así, importantes cantidades de sustancias susceptibles de ser utilizadas por la agricultura o la industria. He aquí por ejemplo, la composición media de una vinaza proveniente de la fabricación de ron:

Peso específico	1.017
Nitrógeno total	0,84 ‰
P ₂ O ₅	0,25 ‰
K	0,71 ‰
pH	4,8

Esta cuestión de la vinaza, dada su importancia, ha sido, naturalmente, muy estudiada por los industriales del alcohol en todos los países y varias soluciones más o menos perfectas han sido propuestas.

En razón de su riqueza en sales, se propuso primero la transformación de la vinaza en un abono sólido, de fácil utilización. Pero la concentración de las vinazas, seguida de calcinación, necesita el empleo de aparatos múltiple-efectos e instalaciones muy costosas, que provocan además un gran consumo diario de calorías.

Otro inconveniente es que en este método se pierden las materias nitrogenadas de las vinazas, cuyo valor como fertilizantes o para otros usos es considerable.

Es precisamente sobre este punto de la recuperación del nitrógeno de las vinazas, que durante 40 años se centralizó en gran parte el esfuerzo de los investigadores.

Varios procedimientos han sido preconizados con ese fin, pero la resolución del problema es difícil. Todos los procedimientos de recuperación del nitrógeno bajo forma de amoníaco no han dado casi resultados prácticos, porque la destilación seca sólo permite recuperar alrededor de la mitad del nitrógeno de las vinazas y da mezclas de amidas y de amoníaco.

En cuanto a la fermentación ámoniacal rápida, tipo procedimiento Effront, da lugar a olores infectos que hacen difícil su empleo.

La solución que a primera vista parecería la más simple y la más ventajosa sería la utilización de la vinaza para el regadío de plantaciones, pues los elementos interesantes de ese líquido serían asimilados por las plantas. Desgraciadamente, la extensión de vinazas crudas sobre la tierra presenta graves inconvenientes: pueden producirse fermentaciones pútridas en el suelo, con desprendimiento de malos olores

y además algunas vinazas crudas como las de caña o ron, a pesar de todos los elementos fertilizantes que contienen, son poco a poco nocivas para la vegetación por razones aún no bien dilucidadas.

Hemos buscado si no sería posible quitarle a la vinaza las sustancias que la vuelven nociva para las plantas y las que la hacen putrescible, por medio de un tratamiento con levaduras. El interés de tal procedimiento sería doble: por una parte permitiría purificar la vinaza con vistas al riego de plantaciones y por otra, permitiría producir una sustancia, la levadura, que pueda ser utilizada para la alimentación de los animales.

Las especies de levadura susceptibles de desarrollarse sobre vinazas con un rendimiento interesante, son poco numerosas. Es necesario recordar en efecto, que si las vinazas son aún ricas en materias nitrogenadas, en cambio son pobres, en general, en materias hidrocarbonadas. Las levaduras que se desarrollan tan bien sobre medios azucarados, tendrán que contentarse aquí con obtener su carbono a partir de las pequeñas cantidades de glicerina, ácidos orgánicos, alcohol y aldehído presentes en las vinazas.

Es lo que explica que las levaduras de cerveza, destilería, vino, panificación, habituadas a vivir sobre medios ricos, cuando se las siembra sobre vinaza proporcionan rendimientos insignificantes. Es preferible dirigirse aquí, a levaduras cuyo carácter aerobio es muy marcado. Estas levaduras tienen un poder fermentativo débil, pero eso no tiene importancia, puesto que lo que se busca, en nuestro caso, no es la producción de alcohol, sino la de células de levaduras.

Tales levaduras, cuando trabajan en aerobiosis, tienen un poder de asimilación muy elevado. Por ejemplo, hace ya varios años, se ensayó en Alemania con cierto suceso, hacer crecer *Torulopsis utilis* sobre vinazas de remolacha. Nosotros recomenzamos esas experiencias con vinazas de caña y vinazas de granos; utilizamos para estos ensayos, tres variedades de *Torulopsis utilis* que nos han dado resultados casi idénticos y en general, poco satisfactorios.

Nos inclinamos entonces hacia las levaduras de velo, ensayando varias especies de estas levaduras; unas provenientes de colecciones científicas, otras aisladas por nosotros de materias primeras de origen uruguayo.

Fué en definitiva sobre una levadura de tal origen que se fijó nuestra elección, después de numerosos ensayos comparativos.

Determinada botánicamente según los métodos de Lodder y Kreger Van Rij (Lodder y Kreger Van Rij: "The yeasts", Amsterdam, 1952), esta levadura se ha revelado, de acuerdo a la clasificación de esos mismos autores, como una variedad de *Candida Krusei*, que llamamos "Candida Krusei Pando".

Para mostrar el valor práctico de ese microorganismo, damos a continuación los resultados de uno de los ensayos de comparación hechos entre *Torulopsis utilis* y *Candida Krusei Pando*. El ensayo fué realizado en las condiciones óptimas de temperatura y aereación convenientes a la *Torulopsis utilis*.

Análisis de la vinaza antes de todo tratamiento.

Azúcar, después de defecación e inversión sobre el líquido centrifugado	0gr.570 ‰
Acidez, avaluada en gramos de H ₂ SO ₄	1,20 ‰
pH	3,6
Nitrógeno total (Kjeldahl)	0,19 ‰
Alcohol	0°03 G. L.

Vinaza al cabo de 24 horas de tratamiento.

Levadura producida en 1000 c.c. de vinaza:

Torulopsis utilis (peso seco)	1gr.70
Candida Krusei Pando (peso seco)	2gr.48
Acidez:	
Torulopsis utilis	1,15 ‰
Candida Krusei Pando	0,57 ‰
pH:	
Torulopsis utilis	3,9
Candida Krusei Pando	4,2
Azúcar:	
Torulopsis utilis	0,487 ‰
Candida Krusei Pando	0,300 ‰
Nitrógeno total de la vinaza después de centrifugada:	
Torulopsis utilis	0,16 ‰
Candida Krusei Pando	0,14 ‰
Alcohol:	
Torulopsis utilis	0°03 G. L.
Candida Krusei Pando	0°04 G. L.

Al cabo de 48 horas.

Levadura producida en 1000 c.c. de vinaza:

Torulopsis utilis	1gr.80
Candida Krusei Pando	2gr.80

Acidez:

Torulopsis utilis	0,96 ‰
Candida Krusei Pando	0,34 ‰

pH:

Torulopsis utilis	3,9
Candida Krusei Pando	4,8

Azúcar residual:

Torulopsis utilis	0,384 ‰
Candida Krusei Pando	0,282 ‰

Nitrógeno residual en la vinaza después de centrifugada:

Torulopsis utilis	0,08 ‰
Candida Krusei Pando	0,08 ‰

Alcohol:

Torulopsis utilis	0°03 G. L.
Candida Krusei Pando	0°02 G. L.

Al cabo de 3 días.

Levadura producida:

Torulopsis utilis	2gr.54 ‰
Candida Krusei Pando	3gr.68 ‰

Acidez:

Torulopsis utilis	0,29 ‰
Candida Krusei Pando	0,09 ‰

pH:

Torulopsis utilis	4,7
Candida Krusei Pando	6,1

Azúcar residual:

Torulopsis utilis	0,419 ‰
Candida Krusei Pando	0,560 ‰

Nitrógeno residual:

Torulopsis utilis	0,15 ‰
Candida Krusei Pando	0,15 ‰

Alcohol:

Torulopsis utilis	0°01 G. L.
Candida Krusei Pando	0°01 G. L.

Al cabo de 4 días.

Levadura producida:

Torulopsis utilis	2gr.40 ‰
Candida Krusei Pando	3gr.06 ‰

Acidez:

Torulopsis utilis	0,05 ‰
Candida Krusei Pando	0,00

pH:

Torulopsis utilis	6,3
Candida Krusei Pando	6,6

Azúcar residual:	
Torulopsis utilis	0,192 ‰
Candida Krusei Pando	0,150 ‰
Nitrógeno total residual:	
Torulopsis utilis	0,09 ‰
Candida Krusei Pando	0,12 ‰
Alcohol:	
Torulopsis utilis	Trazas
Candida Krusei Pando	Trazas

Una vez que quedó decidida la elección de *Candida Krusei Pando* para ser utilizada en estas experiencias, emprendimos un estudio fisiológico sistemático de ese microorganismo a fin de establecer las condiciones óptimas de su desarrollo: temperatura, sales nutritivas eventuales, aereación, etc. El factor más importante es la cantidad de aire insuflado en las cubas de tratamiento; este aire puede, sin inconvenientes, ser distribuído por coronas metálicas agujereadas; es decir, con ayuda de un dispositivo bastante grosero, pues la fineza de las burbujas tiene mucho menos importancia para *Candida Krusei Pando* que para otros microorganismos como *Torulopsis utilis*, que aprovechan mejor de la aereación a medida que las burbujas son más finas.

¿Qué rendimientos pueden descontarse cuando se hace desarrollar *Candida Krusei Pando* sobre vinaza, en condiciones óptimas?

Esos rendimientos son muy variables, según las vinazas utilizadas.

Hemos obtenido con ciertas vinazas provenientes de la destilación de mieles de caña, hasta 6 kgs. 200 de levadura en pasta para 100 lts. de vinaza, pero son estos, resultados excepcionales.

Habitualmente, para un tratamiento de 48 horas, los rendimientos se escalonan entre 1,5 y 4 kilogramos de levadura en pasta por hectolitro de vinaza.

Composición química y valor alimenticio de la levadura proveniente del tratamiento de la vinaza

He aquí la composición química de una muestra media de esta levadura, preparada a partir de una vinaza de azúcar y melaza:

Humedad a 105° C	6,68 %
Sustancias grasas	3,60 %
Sustancias nitrogenadas en N ...	6,76 %
Proteína total	42,28 %
Celulosa	4,74 %
Cenizas	6,30 %
Extractos no nitrogenados	36,40 %

Si se toman por base esas cifras analíticas, se puede calcular el valor alimenticio de la levadura producida, utilizando las tablas experimentales de Kellner. Se obtiene así, una cifra de 67,43 unidades Kellner; se trata pues, de un producto de valor alimenticio comparable al de la sangre desecada (67,7 unidades Kellner) y al de la harina de pescado (64.2 unidades).

Tenor en vitaminas de la levadura y ensayos de nutrición sobre aves de corral

Esta levadura fué estudiada por el Dr. José J. Estable y los químicos Sres. Jorge W. Grezzi y Jorge Varela Rodríguez, del Laboratorio de Biología Experimental de esta División, con el objeto de determinar su riqueza vitamínica y su valor como alimento para aves de corral. Del trabajo realizado se extrajeron las siguientes conclusiones:

a) Se comprobó en la muestra analizada la presencia de carotenos, tiamina, riboflavina y ergosteroles. No se encontró vitamina B₁₂, ni ácido ascórbico.

b) El contenido en tiamina y riboflavina fué de 5,2 y 152,2 microgramos por gramo de levadura, respectivamente.

c) En ensayos de nutrición realizados sobre lotes de pollos Rhode Island Red pudo observarse que la adición de la levadura a las raciones, aumenta el valor nutritivo de las mismas, pudiendo sustituir en gran parte, ingredientes que aportan proteínas de origen animal, tales como la harina de carne y la leche desecada, fuentes importantes de ciertos aminoácidos esenciales para el crecimiento de los animales.

La inclusión de esta levadura en las raciones se tradujo en un aumento de la palatabilidad de las mismas, en una reducción de la mortalidad, y en un incremento en las curvas de crecimiento de los animales, no observándose efectos fisiológicos desfavorables (fig. 1).

Efecto de la vinaza sobre la vegetación después del tratamiento

Después del tratamiento por la levadura, la vinaza queda notablemente purificada. Ha perdido más de la mitad de su nitrógeno y su acidez en gran parte orgánica, ha disminuído considerablemente. Contiene aún, sin embargo, elementos fertilizantes, materias nitrogenadas, cuerpos ternarios, fósforo, potasio, etc.

He aquí algunas experiencias demostrando el efecto de la vinaza tratada sobre la vegetación:

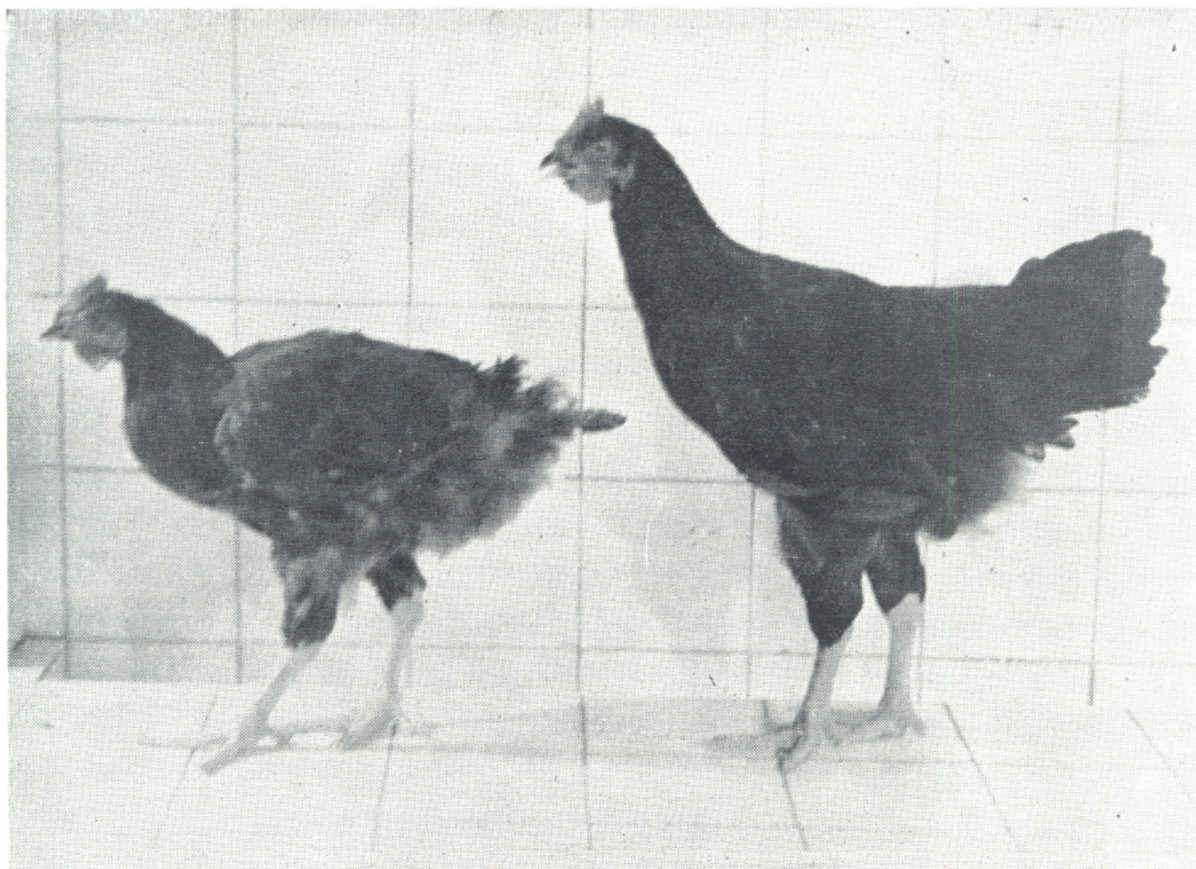


Fig. 1.— Pollos de tres meses de edad.

El pollo de la **izquierda**, alimentado con la **ración testigo** siguiente: maíz molido, 40 kgs.; trigo molido, 32 kgs.; harina de carne, 20 kgs.; caliza, 5 kgs.; harina de leche, 2 kgs.; sal común, 1 kg.; sulfato manganeso, 10 grs.

El pollo de la **derecha**, alimentado con ración en que se utiliza la levadura *Candida* como fuente de proteínas: maíz molido, 40 kgs.; trigo molido, 32 kgs.; harina de carne, 5 kgs.; caliza, 5 kgs.; sal común, 1 kg.; levadura *Candida* seca, 20 kgs.; sulfato manganeso, 10 gramos. En esta ración se ha sustituido la leche en polvo y parte de la carne desecada, por levadura *Candida*.

EXPERIENCIAS SOBRE EL MAIZ

a) **Ensayos sobre el terreno.**— A mediados de diciembre de 1951, fueron preparados dos pequeños campos experimentales "A" y "B", comprendiendo cada uno, dos filas de 30 plantas de maíz. La distancia entre las filas de plantas era de 80 cms. y entre cada planta de una misma fila, de 40 cms.

Las jóvenes plantas empezaron a surgir de la tierra alrededor del 25 de diciembre.

El 28 del mismo mes comenzaron los riegos diarios organizados de la siguiente manera:



Fig. 2.—A la derecha: maíz de cuarenticinco días regado con vinaza no tratada. A la izquierda: maíz de cuarenticinco días regado con vinaza tratada por *Candida Krusei* Pando.

Campo A:

1ª fila: Riego con vinaza de caña no tratada.

2ª fila: Riego con vinaza de caña tratada con *Candida Krusei* Pando.

Campo B:

1ª fila: Riego con agua.

2ª fila: Riego con vinaza de caña no tratada.

La cantidad de líquido vertido cada día fué de 40 c.c. por planta. El 3 de enero se comenzó a notar ya una diferencia muy neta, en el campo A, entre las filas 1 y 2 los maíces parecían más robustos y más desarrollados en la línea 2 (vinaza tratada).

Las diferencias siguieron acentuándose durante todo el mes de enero. He aquí lo que se podía observar el 26 de enero:

Campo A.— Diferencia extremadamente neta entre las filas 1 y 2; las plantas de maíz de la fila 1 son más pequeñas, a menudo la mitad, que las plantas de la fila 2 (vinaza tratada).

Se constata además, una gran variabilidad de una planta a otra en la fila 1, mientras que la fila 2 es más homogénea.

Campo B.— En la fila regada con agua, las plantas son un poco más grandes y sobre todo mucho más homogéneas que en la fila regada con vinaza no tratada.

La figura 2 muestra la diferencia entre el maíz regado con la vinaza tratada y el regado con la vinaza no tratada, 45 días después de haber comenzado el ensayo.

Los resultados obtenidos confirman lo que se sabe ya sobre la nocividad de la vinaza de caña. Muestran además que el tratamiento por *Candida Krusei* Pando suprime este efecto nocivo; después del tratamiento, la vinaza no solamente carece de elementos perjudiciales para la vegetación, sino que por el contrario, actúa como un abono, favoreciendo su desarrollo.

EXPERIENCIAS SOBRE LA CAÑA DE AZUCAR

Se efectuó una experiencia sobre caña de azúcar, en tres parcelas de 18 mts²; once meses después de iniciada la plantación se obtuvieron los resultados siguientes, para un riego equivalente a 100 mm. de lluvia mensuales:

Parcela testigo regada con agua: 170 kgs. de caña cosechada.

Parcela regada con vinaza no tratada: 198 kgs. de caña cosechada.

Parcela regada con vinaza tratada: 248 kgs. de caña cosechada.

Nota.— Cuando presentamos nuestra comunicación al Congreso de Química de Montevideo en 1954, los ensayos de nutrición sobre aves de corral realizados por el Dr. J. Estable y el Q. F. J. Grezzi estaban en curso de realización. Los resultados de estos ensayos no figuraban pues en nuestra comunicación primitiva