

“Evaluación de levaduras residuales de la industria cervecera artesanal empleadas como agentes bioestimulantes en horticultura”

Abad Camila¹, Vargas Mercedes^{1,2}, Petriagnani Diego Bernardo^{1,2}, Maturano Paola^{1,2,3}, Mestre María Victoria^{1,2,3}

1- Instituto de Biotecnología – Facultad de Ingeniería – UNSJ 2- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) 3- Departamento de Ingeniería Agronómica- Facultad de Ingeniería – UNSJ

Mail: camilabad18@gmail.com

Resumen

La producción de cerveza artesanal, ha experimentado una expansión global rápida, contribuyendo a un flujo de residuos como el bagazo, el trub y la levadura. El residuo de levadura que se genera es de 3 kg /hL. En los últimos años, las levaduras han llamado la atención por su potencial para mejorar el crecimiento de las plantas y contribuir a la agricultura sostenible. El presente estudio se centra en caracterizar la levadura *Saccharomyces cerevisiae* recolectada al final del proceso de fermentación de la cerveza artesanal. Se realizó la caracterización de la biomasa, y se evaluó el efecto de la levadura en semillas y plántulas de lechuga en cuatro concentraciones (10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8 células mL⁻¹). Después de 28 días, se analizaron la altura de la planta, el número de hojas, los pesos frescos y secos tanto de las partes aéreas como de las raíces, así como el contenido de clorofila. La concentración más efectiva (10^7 células mL⁻¹) se aplicó a plántulas de tomate en sustrato estéril, en comparación con un fertilizante orgánico comercial. Después de 21 días, se evaluaron los parámetros de crecimiento. La dosis de 10^7 células mL⁻¹ demostró ser efectiva para su aplicación en plántulas como enmienda orgánica y sustituto de productos comerciales. Este enfoque integrado muestra el potencial de las levaduras en la agricultura sostenible, utilizando subproductos de la industria alimentaria para mejorar el rendimiento de los cultivos y mitigar la contaminación ambiental.

PALABRAS CLAVE: biofertilizante de levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, promotor de crecimiento vegetal, economía circular, agricultura sostenible

INTRODUCCIÓN

Actualmente, es innegable que la industria de procesamiento de alimentos tiene un impacto negativo en la sostenibilidad del planeta debido al volumen sustancial de desechos que genera (1). En particular, la industria de la cerveza artesanal ha experimentado un aumento significativo en la producción en los últimos años, desempeñando un papel importante en este problema. En el proceso para la elaboración de esta bebida, se utilizan materias primas como cebada, agua, lúpulo y levadura. Durante la etapa de fermentación, la levadura empleada, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, tiende a multiplicarse de tres a cinco veces, especialmente en las primeras horas cuando se suministra oxígeno al mosto (2). Generalmente, la biomasa producida es de aproximadamente 1,5 a 3 kg hl⁻¹ de cerveza (3), y al final del proceso, esta biomasa se descarga principalmente en las aguas residuales (4). Esta descarga puede causar graves problemas de contaminación en cuerpos de agua, ya que contiene compuestos orgánicos que requieren oxígeno para degradarse (5). En general, las levaduras lisadas son una fuente rica de nutrientes orgánicos e inorgánicos (6). Debido a estas propiedades químicas y bioactivas

y siendo segura para los humanos (Generalmente Reconocida como Segura - GRAS) (7) y el medio ambiente, *S. cerevisiae* ha surgido en las últimas décadas como una alternativa positiva a los fertilizantes químicos (8). Por lo tanto, para promover el uso de este residuo, es necesario llevar a cabo una serie de pasos que conduzcan a obtener un producto seguro para las plantas y el suelo, y eficientemente nutritivo, lo cual es la motivación detrás del presente estudio.

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad bioestimulante del residuo de levadura de la industria cervecera en cultivos de lechuga y tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo la cosecha y preparación de la biomasa de levadura. Esta biomasa de levadura se obtuvo de una cerveza de estilo ale con 20 IBU y un 5,5% (v/v) de alcohol. Las muestras fueron recolectadas en condiciones estériles y transportadas al laboratorio del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de San Juan (IBT-UNSJ) bajo refrigeración. Se realizó un triple enjuague de la biomasa de levadura utilizando

agua desionizada estéril a pH 7 para eliminar el exceso de iso-alfa-ácidos provenientes del lúpulo y de alcohol adheridos a las paredes celulares de levadura durante el proceso.

A partir de la biomasa lavada se evaluaron las siguientes actividades: a- Solubilización de fosfato y zinc (8, 9), b- Producción de ácido indolacético (10), c- Germinación and fitotoxicidad y por ultimo d- Evaluación in vivo en plantines de lechuga (Riego de 30 mL Dosis evaluadas 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8 células mL^{-1}); e- la dosis que mejor efecto dio en lechuga fue aplicada en plantines de tomate. El riego se llevó a cabo cuando los plantines presentaron las primeras raicillas emergentes.

Los datos obtenidos en el ensayo fueron procesados estadísticamente mediante pruebas t y ANOVA de una vía con comparaciones múltiples de Fisher como prueba post hoc para comparaciones múltiples ($p < 0,05$). Los resultados se presentaron como el valor promedio de las determinaciones con sus respectivas desviaciones estándar ($\pm SD$). El software utilizado fue INFOSTAT.

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos mediante la caracterización de la biomasa de levadura recolectada y lavada. El pH registrado fue de 4,2, con una viabilidad del 49,7% al momento de la cosecha. La materia orgánica en la biomasa presentó valores de 13,06, con valores de NPK de 5,38, 0,21 y 0,50% (p/p), respectivamente. Basado en los resultados obtenidos del ensayo colorimétrico utilizando el reactivo de Salkowski, la levadura cultivada en presencia de Trp produjo concentraciones de AIA (ácido indol-3-acético) de $10,89 \mu g mL^{-1}$, en comparación con $6,55 \mu g mL^{-1}$ cuando se cultivó en YPD sin L-Trp (Tabla 1).

Tabla 1: Caracterización de la biomasa

Caracterización	Resultados
PO ₄ solubilización	positivo
Zn solubilización	positivo
Tests catalasa	positivo
AIA producción YPD + biomasa + trp ug/m	10,89
AIA producción YPD ug/mL + biomasa	6,55
Nitrogeno	5,38
Fosforo	0,21
Potasio	0,5
Materia Orgánica	13,06
pH	4,2
viabilidad	49,70%

La actividad catalasa, y solubilización de Zn y fosfato dieron positiva dichas actividades para la biomasa evaluada. Al evaluar la tasa de germinación, se encontró que las semillas inoculadas con una biomasa de levadura de 10^7 y 10^8 células mL^{-1} mostraron los porcentajes de germinación más altos (94% y 90%, respectivamente), mientras que la germinación más baja (68%) se observó en semillas no esterilizadas (SWD). Los tratamientos con 10^6 y 10^5 células mL^{-1} exhibieron porcentajes de germinación del 82% y 80% respectivamente, y las semillas sin aplicación de biomasa de levadura (SWA) tuvieron un 76%. La expansión de los cotiledones se registró a las 24 horas post-germinación, obteniéndose niveles del 87,2% y 86,6% con la inoculación de 10^7 y 10^8 células mL^{-1} , respectivamente. Por otro lado, los niveles más bajos de expansión se registraron en los tratamientos SWD y 10^5 células mL^{-1} (Figura 1).



Figura 1: Plántulas de lechuga tratadas de izquierda a derecha: (A) tratamiento de control, (B) sobrenadante de YPD, (C) sobrenadante de YPD + L-Trp.

La evaluación en lechugas se llevó a cabo durante 28 días. Las dosis aplicadas en riego a plantines de lechuga fueron 10^5 , 10^6 , 10^7 y 10^8 células mL^{-1} . En la tabla 2 se

puede ver el efecto de los tratamientos tanto en el número de hojas como en el peso de la planta. Además, los parámetros evaluados en raíz y parte aérea de los plantines de lechuga luego de 28 días de tratamiento (datos no mostrados, (ampliación en DOI 10.3389/finmi.2024.1360263)). Estos datos analíticos son contrastados con la arquitectura de las plantas Figura 2.



Figura 2: Efecto del biofertilizante en el crecimiento de lechugas al final del ensayo de 28 días, de izquierda a derecha: (A) tratamiento de control - TC, (B) 5×10^5 células mL^{-1} - T1; (C) 5×10^6 células mL^{-1} - T2; (D) 5×10^7 células mL^{-1} - T3; (E) 5×10^8 células mL^{-1} - T4.

Se pudo observar que el tratamiento con riego a una dosis de 10^7 células mL^{-1} fue el que mejores parámetros de rendimiento registró. Dicho tratamiento fue aplicado posteriormente en plantines de tomate (T1), usando un tratamiento control sin aplicación de fertilizante (TC), y un tratamiento con aplicación de fertilizante orgánico comercial (T2). Desde la Figura 3A, se puede observar que al inicio del ensayo no había diferencias significativas en el número de hojas, aunque la altura de las plantas variaba. Al final del tratamiento, la altura promedio de Tt1 fue significativamente mayor en comparación con Tt2 y TtC. A pesar de que Tt2 comenzó con una altura promedio más baja que Tt1 y TtC, ambos tenían valores iniciales iguales ($p < 0.05$), la variación en la altura durante el período de 21 días no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tt1: $8,28 \pm 2,05$; Tt2: $8,28 \pm 1,69$ y TtC: $7,87 \pm 2,40$). Por otro lado, las plantas tratadas con levadura (Tt1) mostraron el mayor valor promedio ($p < 0,05$) de número de hojas durante las tres semanas del ensayo (Figuras 3B, C), con un aumento en el recuento de hojas durante el período de 21 días de $1,71 \pm 0,76$ hojas.

CONCLUSIONES

La gestión sostenible de recursos, la reducción de residuos y la promoción de prácticas agrícolas responsables contribuyen a un desarrollo global más

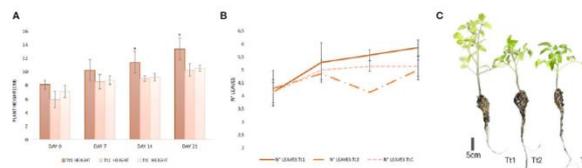


Figura 3: peso de las plantas de tomate (A), número de hojas de plantas de tomate (B), arquitectura de las plantas de tomate (C)

sostenible y equitativo. Los hallazgos reportados en este estudio indican que el residuo de levadura de cervecería es un agente biológico con potencial biofertilizante. La posibilidad de reutilizar este subproducto tiene un impacto positivo que se refleja en: a) la reducción de su descarga en aguas residuales y la revalorización del residuo; b) la incorporación de un bioestimulante en el sector agrícola, reduciendo así la aplicación de productos químicos sintetizados. Los resultados observados en lechuga (tanto en la aplicación de semillas como de plántulas) y tomate fueron consistentes. Además, el residuo utilizado como biofertilizante mostró un rendimiento comparable e incluso superior al del fertilizante comercial. Por lo tanto, los resultados obtenidos aquí sientan las bases para explorar más a fondo el potencial de aplicación de estas levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Khedkar, R., and Singh, K. (2018) doi: 10.1007/978-3-319-58415-7_3
- 2- Briggs, D. E. (2004). Brewing: science and practice Vol. 108 (Cambridge, England: Woodhead Publishing).
- 3- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., and Tavela, J. G. (2010). doi: 10.1016/j.jclepro.2012.03.003
- 4- Kerby, C., and Vriesekoop, F. (2017). doi: 10.3390/beverages3020024
- 5- Simate, G. S., Cluett, J., Iyuke, S. E., Musapatika, E. T., Ndlovu, S., and Walubita, L. F. (2011). doi: 10.1016/j.desal.2011.02.035
- 6- Bekatorou, A., Psarianos, C., and Koutinas, A. A. (2006). Production of food grade yeasts. Food Technol. Biotechnol. 44, 407–415.
- 7- Poloni, V., Salvato, L., Pereyra, C., Oliveira, A., Rosa, C., and Cavaglieri, L. (2017). doi: 10.1016/j.fct.2017.02.040
- 8- Hernandez-Fernandez, M., Cordero-Bueso, G., Ruiz-Muñoz, M., and Cantoral, J. M. (2021). doi: 10.3390/plants10050822
- 9- Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B. R., and Musarrat, J. (2006). doi: 10.1016/J.Chemosphere.2005.12.057
- 10- Rokhbakhsh-Zamin, F., Sachdev, D., Kazemi-Pour, N., Engineer, A., Pardesi, K. R., and Zinjarde, S. (2011). doi: 10.4014/jmb.1012.12006
- 11- P. H., Fang, W. T., Shin, L. Y., Wei, J. Y., Fu, S. F., and Chou, J. Y. (2014).