



De la sidra a los biorreactores: *Magayas y borras* como fuente de nutrientes de bajo coste

ROSA PANDO BEDRIÑANA. Área de Tecnología de los Alimentos. rpando@serida.org
RAQUEL LORENZO CASTILLO. Área de Tecnología de los Alimentos. raquellc@serida.org
ANNA PICINELLI LOBO. Área de Tecnología de los Alimentos. apicinelli@serida.org

↑
Detalle de magaya y borra
de fermentación.

Introducción

La *magaya* es el subproducto que se obtiene del prensado de manzana en la industria sidrera. Su caracterización nutricional revela la presencia significativa de carbohidratos, compuestos principalmente por sacáridos insolubles como la celulosa, hemicelulosa y ligninas, además de pectina (Pando Bedriñana et al., 2023). Sin embargo, los microorganismos utilizados en procesos biotecnológicos a menudo no pueden aprovechar estos carbohidratos complejos. Por tanto, para convertir este subproducto en una fuente de carbono fermentable o materia prima de bajo costo, se requieren tratamientos

que liberen azúcares simples (Hijosa-Valsero et al. 2017).

Las *lías* o *borras* de fermentación se forman como subproducto al finalizar las etapas de fermentación y maduración de la sidra, y están compuestas principalmente por microorganismos, fragmentos de material vegetal y partículas insolubles. Lo que destaca notablemente en las *borras* son sus elevados porcentajes de fibra alimentaria y proteínas (Rodríguez Madrera et al., 2016). Subproductos similares de la industria vinícola se han utilizado con éxito como fuente de nutrientes en la formulación de medios de fermentación económicos (Bustos et al., 2004).

La utilización de medios derivados de subproductos en la biotecnología no solo fomenta la sostenibilidad ambiental, sino que también disminuye la dependencia de recursos naturales adicionales. Además, esta estrategia de aprovechamiento contribuye a la rentabilidad de los procesos de producción biotecnológica.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar diversas metodologías para transformar tanto la *magaya* como las *borras* en nutrientes de bajo costo para la formulación de medios de cultivo y fermentación. El objetivo subyacente es abrir nuevas oportunidades y promover la utilización eficiente de ambos subproductos en el campo de la biotecnología.

Metodología

Las harinas de *magaya* se obtuvieron de la molienda de *magayas* secas estabilizadas (evaporación en horno, 60°C durante 48 horas) y las *borras* en forma de polvo de la estabilización mediante liofilización de *borras* de fermentación.

Para caracterizar ambos subproductos, se evaluaron sus contenidos de azúcares en el caso de las *magayas* y de proteína bruta en el caso de las *borras*. Los perfiles de azúcares fermentables de las harinas de *magaya* se obtuvieron mediante extracción con una solución de etanol y agua (80:20), asistida por ultrasonidos con una relación sólido/líquido de 1/170 y un tratamiento de 1,5 minutos a una amplitud del 50%. La fase líquida resultante se llevó a sequedad en rotavapor, se reconstituyó en agua (5 mL) y se analizó utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de índice de refracción. Para cuantificar los niveles de proteína bruta en las *borras* liofilizadas, se aplicó el método Kjeldahl (AOAC, 2005).

– La obtención de azúcares fermentables de las harinas de *magaya* se efectuó utilizando agua como solvente verde, y se procedió a la evaluación de distintos métodos de extracción, que incluyeron:

- Tratamiento M1. Maceración en estufa (5 relaciones sólido/líquido extractante; 40°C, 300 rpm, 24 h).

- Tratamiento M2. Extracción asistida por ultrasonidos (sólido/líquido extractante 1/25; 100% Amplitud, 4 tiempos).
- Tratamiento M3. Autohidrólisis en autoclave (sólido/líquido extractante 1/25; 134°C, 22 min).
- Tratamiento M4. Autohidrólisis en autoclave (sólido/líquido extractante 1/10; 134°C, 22 min) seguida de hidrólisis enzimática (Cellulase SAE00 20, 50°C, 72 h, 180 rpm, pH= 5,0).

Los azúcares extraídos se cuantificaron en los sobrenadantes de las mezclas (5.000 rpm, 10 min) mediante HPLC.

–La extracción de nitrógeno a partir de la *borra* en forma de polvo se realizó utilizando el agua como solvente, mediante los siguientes métodos:

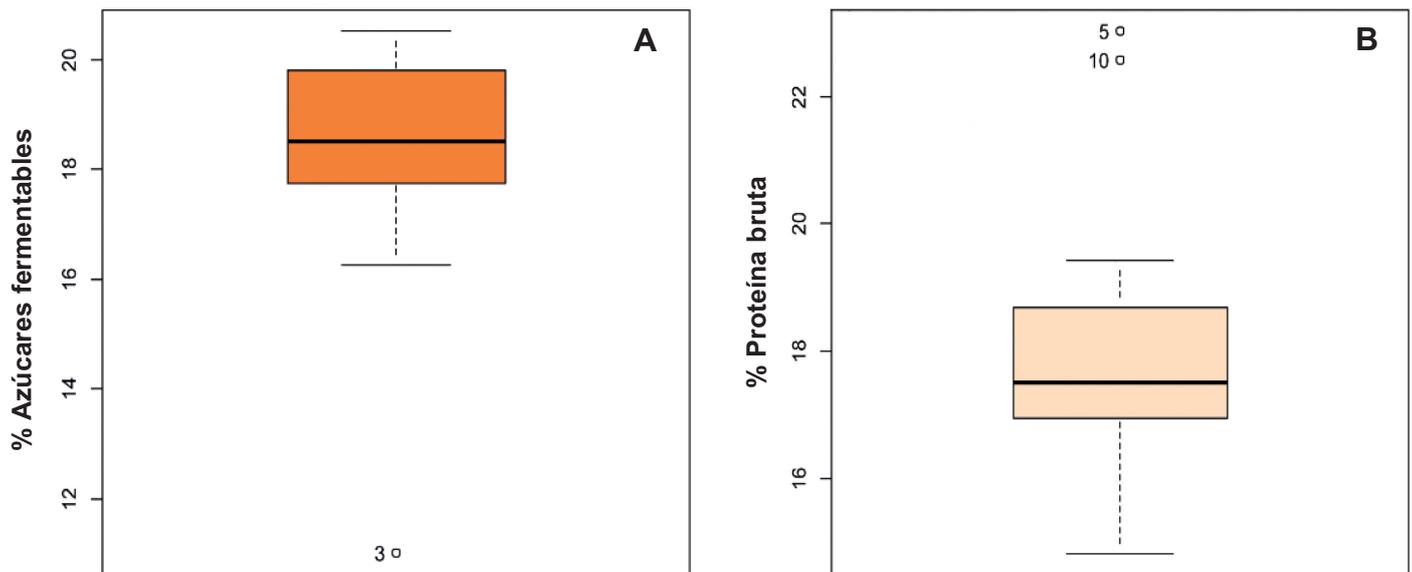
- Tratamiento B1. Autohidrólisis en autoclave (sólido/líquido extractante 1/5; 121°C, 15 min).
- Tratamiento B2. Autohidrólisis en autoclave (sólido/líquido extractante 1/5; 121°C, 15 min) y sonicación (40 kHz, 30 min).
- Tratamiento B3. Extracción mecánica (sólido/líquido extractante 1/5; suspensión/bolas vidrio 1/2; 3 ciclos de 10 min a 1.970 rpm + 10 min a -20°C).

El contenido de aminoácidos y otros compuestos de nitrógeno se determinaron en los sobrenadantes de las mezclas (5.000 rpm, 10 min) a partir del índice formol.

Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Obtención de azúcares

Se trabajó con una mezcla de diez harinas procedentes de *magayas* de mezclas de variedades asturianas sometidas a un prensado rápido (prensas neumáticas e hidráulica vertical). La caracterización de las harinas mostró la presencia de azúcares fermentables, incluyendo sacarosa, glucosa y fructosa, en un rango que varió entre el 11% y el 20% (Figura



↑
Figura 1.-Caracterización de subproductos de la industria sidrera. A: Contenido de azúcares fermentables de 10 *magayas*; B: Contenido de proteína bruta de 10 *borras*.

1A). Además, se observó que la relación fructosa y glucosa en estas harinas oscilaba entre 2,6 y 5,0.

En la Tabla 1 se resumen las concentraciones de azúcares obtenidas con los distintos métodos de tratamiento de la harina de *magaya*.

En el método de maceración (M1), la relación entre sólido y líquido extractante estuvo condicionada por la solidificación de la mezcla. La presencia de pectina, azúcares, acidez, una baja proporción de agua y la temperatura de incubación favorecieron la formación de un gel. Se ensayaron distintas relaciones harina y agua (entre 1/5 y 1/100) observando por un lado, la coagulación cuando se utilizaban bajas proporciones de agua (1/5 y 1/10); y por otro, concentraciones reducidas de azúcares a medida que se aumentaba la proporción de agua. La relación 1/25 permitió extraer 21 g de azúcares totales por cada 100 g de harina, obteniendo un medio con una riqueza en azúcares fermentables de $8,8 \pm 0,03$ g/L y una relación Fructosa/Glucosa de 2,9.

Con el objetivo de mejorar los rendimientos de extracción y reducir significativamente la duración del proceso, se evaluó la aplicación de ultrasonidos a la mezcla (tratamiento M2). Los efectos mecánicos generados por la cavitación indu-

cida provocan la disrupción de paredes celulares aumentando la permeabilidad de los azúcares, facilitando que éstos se transfieran al agua. Se ensayaron cuatro tiempos de extracción (900, 450, 90 y 45 segundos) obteniendo concentraciones de azúcares similares en todos los casos. Este método incrementó un 5% el porcentaje de azúcares extraídos con respecto a la maceración durante 24h, manteniendo la relación Fructosa/Glucosa del medio y reduciendo el tiempo de extracción.

El tratamiento térmico de la mezcla harina *magaya* y agua, denominado autohidrólisis, implica el uso del agua bajo condiciones presurizadas, para hidrolizar las paredes celulares y las macromoléculas. Este método (tratamiento M3) produjo concentraciones y proporciones de azúcares fermentables similares a las obtenidas mediante maceración. Cuando se aplicó una hidrólisis enzimática después de la autohidrólisis (tratamiento M4), la eficiencia de extracción mejoró (33 g de azúcares totales/100 g de harina). La enzima celulasa descompone la celulosa y polímeros relacionados en moléculas más pequeñas y azúcares fermentables, principalmente glucosa. Esta última metodología incrementa el tiempo de extracción, pero permite obtener un medio con una riqueza en azúcares totales de $33 \pm 0,8$ g/L modificando la relación Fructosa/Glucosa a 0,9.



Tratamiento	Sacarosa (g/L)	Glucosa (g/L)	Fructosa (g/L)	Azúcares fermentables (g/L)	Relación/ Fructosa Glucosa	g azúcar/ 100 g harina magaya
M1 1/25 magaya:agua	0,3	2,2	6,3	8,8	2,9	21,0
1/25 magaya:agua	0,3	2,3	6,3	8,8	2,9	21,2
1/50 magaya:agua	0,2	1,1	3,1	4,4	2,8	17,6
1/50 magaya:agua	0,2	1,1	3,1	4,4	2,8	17,6
1/100 magaya:agua	0,2	0,6	1,6	2,3	2,8	20,8
1/100 magaya:agua	0,2	0,6	1,6	2,3	2,7	20,9
M2 1/25 magaya:agua, 100A, 15 min	0,9	2,2	6,9	10,0	3,2	25,1
1/25 magaya:agua, 100A, 15 min	1,0	2,2	6,9	10,1	3,1	25,2
1/25 magaya:agua, 100A, 7,5 min	1,0	2,2	7,0	10,3	3,2	25,7
1/25 magaya:agua, 100A, 7,5 min	1,0	2,2	6,9	10,1	3,1	25,3
1/25 magaya:agua, 100A, 1,5 min	1,0	2,2	7,1	10,3	3,2	25,8
1/25 magaya:agua, 100A, 1,5 min	1,0	2,2	6,8	10,0	3,1	24,9
1/25 magaya:agua, 100A, 45 seg	0,9	2,0	6,4	9,4	3,2	23,4
1/25 magaya:agua, 100A, 45 seg	1,0	2,1	6,8	9,9	3,2	24,7
M3 1/25 magaya:agua	0,4	2,2	6,6	9,2	2,9	22,0
1/25 magaya:agua	0,4	2,3	6,7	9,3	2,9	22,4
M4 1/10 magaya:agua	0,6	17,5	15,1	33,1	0,9	33,1
1/10 magaya:agua	0,6	17,7	15,4	33,8	0,9	33,8

Obtención de nitrógeno

Los ensayos de obtención de nitrógeno se realizaron con una mezcla de polvo liofilizado de diez *borras*, con concentraciones de proteína bruta que variaban entre el 15% y el 23% (Figura 1B).

Los contenidos de aminoácidos expresados en nitrógeno asimilable obtenidos con cada método de extracción se representan en la Figura 2.

Cuando la mezcla borra y agua (1/5) es sometida a un ciclo de esterilización (tratamiento B1), que promueve la desnaturalización de proteínas y la desorganización de las cubiertas celulares de los microorganismos, se detecta un contenido de nitrógeno en el medio de $234 \pm 0,2$ mg/L. Al combinar este tratamiento térmico con un proceso de sonicación a baja frecuencia (tratamiento B2), indicado para facilitar la rotura celular y la liberación de los contenidos citoplasmáticos, los niveles de nitrógeno se triplican, alcanzando $685 \pm 0,9$ mg/L. Este último tratamiento resultó ser el más efectivo

entre los ensayados realizados y ha sido aplicado a lías de vino en la bioproducción de manitol (Hijosa-Valsero et al., 2021).

Según muestra la figura, la utilización de perlas de vidrio (tratamiento B3) con el propósito de dañar físicamente las células, romper sus paredes celulares y liberar los contenidos celulares fue el tratamiento que menor concentración de aminoácidos proporcionó. A pesar de que la rotura celular mediante el uso de perlas es una técnica con aplicaciones generalizadas, su eficacia es variable y está condicionada por una serie de factores, incluyendo el tipo de célula, la concentración celular, la relación células/perlas, entre otros (Avramia & Amariei, 2022).

Formulación de medios de cultivo y de fermentación

Se describen a continuación dos aplicaciones evaluadas utilizando los nutrientes obtenidos de ambos subproductos.



Tabla 1.- Azúcares fermentables obtenidos de harina de *magaya* con distintos métodos de extracción.



→ **Figura 2.**-Promedio de nitrógeno asimilable obtenido de borra con distintos métodos de extracción.



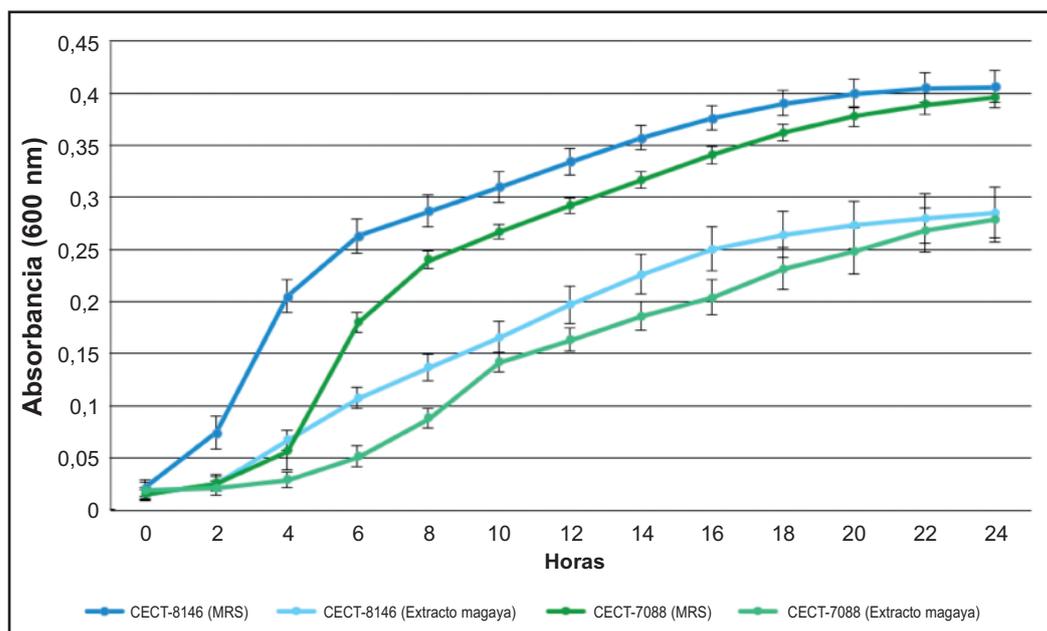
El caldo de cultivo, obtenido mediante el tratamiento M4 a partir de harina de *magaya*, se caracterizó por contener niveles de glucosa (17,6 g/L) comparables a los presentes en medios comerciales ampliamente utilizados en microbiología y biotecnología, como el MRS (Man, Rogosa, and Sharpe) o el YPD (Yeast, Peptone, Dextrose), para el cultivo de bacterias lácticas y levaduras respectivamente. Sin embargo, presentó cantidades limitadas de nitrógeno asimilable.

cepas de bacterias lácticas adquiridas en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT 8146 y CECT 7088) en dos medios de cultivo. Uno de los medios, comercial, fue MRS recomendado por la CECT como óptimo para el crecimiento de dichas cepas. El segundo medio consistió en el caldo obtenido mediante el tratamiento M4 a partir de harina de *magaya*, al cual se le adicionó extracto de levadura y sulfato de manganeso en las mismas concentraciones que las del medio comercial de referencia.

Una de nuestras experimentaciones consistió en evaluar el crecimiento de dos

Los resultados se representan gráficamente en la Figura 3. En el medio MRS,

→ **Figura 3.**-Evolución de la absorbancia de las cepas CECT-8146 y CECT-7088.





ambas cepas alcanzaron mayores densidades celulares que en el medio alternativo elaborado a partir de *magaya*. Sin embargo, los recuentos microbiológicos obtenidos después de 24 horas de crecimiento en el medio alternativo $2,71 \cdot 10^8$ y $3,14 \cdot 10^7$ ufc/mL para las cepas CECT-8146 y CECT-7088 respectivamente, superan incluso las concentraciones celulares típicas de los inóculos utilizados en procesos biotecnológicos.

En la otra experimentación, se evaluó la viabilidad de sustituir el nitrógeno obtenido a partir de la *borra* (tratamiento B2) como una alternativa al extracto de levadura en el proceso de producción de manitol mediante métodos biotecnológicos. Este compuesto posee múltiples aplicaciones, como edulcorante en la industria alimentaria, diurético en medicina y potenciador de la absorción de ciertos medicamentos. Para esta evaluación, se utilizaron inóculos obtenidos en el medio alternativo mencionado previamente y un caldo rico en azúcares, proveniente de manzanas descartadas en los llagares por su nivel de podredumbre. Este caldo se suplementó tanto con extracto de levadura como extracto de *borra* (tratamiento B2).

La Figura 4 muestra los cambios en los niveles de azúcares y polialcoholes detectados en el biorreactor utilizando la cepa CECT-8146. Los resultados desta-

can, en primer lugar, que el inóculo obtenido en el medio alternativo al MRS comercial demostró ser adecuado para llevar a cabo la obtención de manitol mediante un proceso biotecnológico. En segundo lugar, aunque la utilización del extracto de *borra* supone alargar el tiempo del proceso biotecnológico, el ciclo de vida se considera satisfactorio ya que se logra la obtención de manitol a partir de subproductos. Estos resultados, requerirán investigaciones adicionales para optimizar el proceso de producción de manitol a partir de estos subproductos de la industria sidrera.

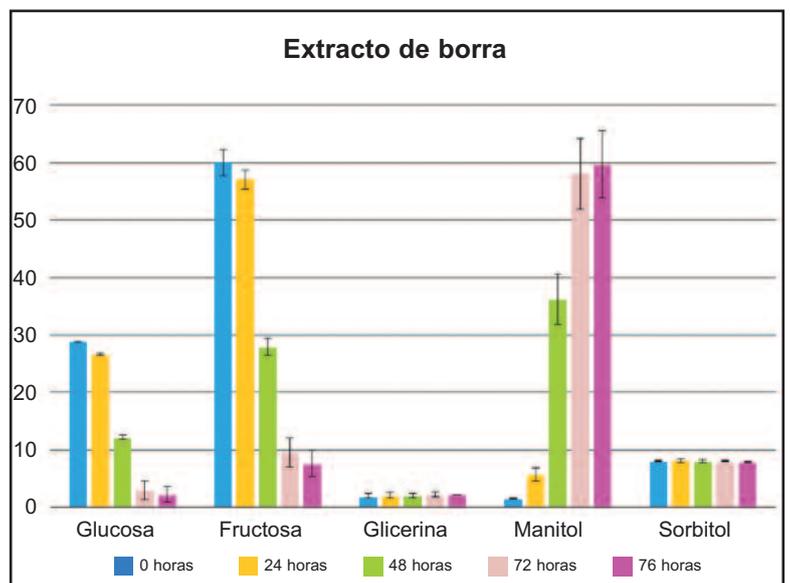
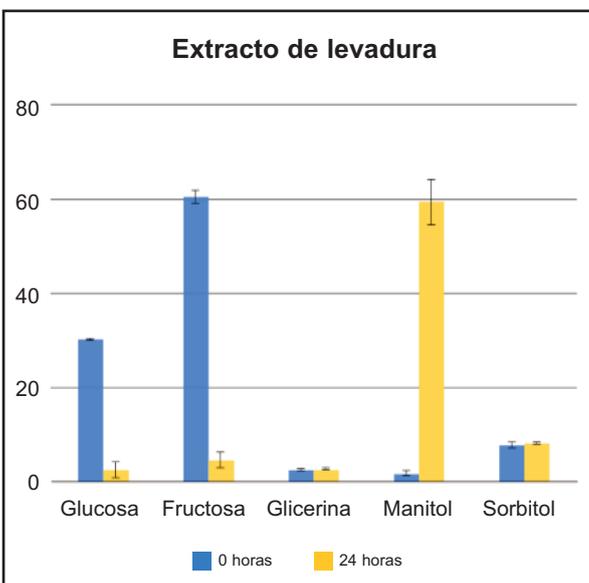
Conclusiones

Este estudio confirma la posibilidad de utilizar los subproductos de la industria sidrera para obtener azúcares y nitrógeno, así como para la producción de compuestos beneficiosos, como el manitol. Estos resultados abren la puerta a nuevas áreas de investigación y aplicaciones innovadoras en los sectores de la alimentación y la biotecnología.

Agradecimientos

El soporte económico de este trabajo procede de la Agencia Estatal de Investigación, referencia PID2020-118737RR-C21, financiado por MCIN/ AEI / 10.13039/501100011033.

↓
Figura 4.-Evolución de las concentraciones de azúcares y polialcoholes durante la transformación de la fructosa a manitol en medios de cultivo suplementados con extracto de levadura y extracto de *borra*. Ambos procesos se llevaron a cabo a una temperatura de 30°C y un pH de 5,0. Los resultados son el promedio de dos experimentos.



Referencias bibliográficas

- AOAC. Official Methods of Analysis 18th Edition. William Horwitz, George W. Latimer, Editors. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2005.
- AVRAMIA, I. & AMARIEI S. (2022). A simple and efficient mechanical cell disruption method using glass beads to extract β -glucans from spent brewer's yeast. *Applied Sciences*, <https://doi.org/10.3390/app12020648>.
- BUSTOS, G.; MOLDES, A.B.; CRUZ, J.M. & DOMÍNGUEZ, J.M. (2004). Formulation of Low-Cost Fermentative Media for Lactic Acid. Production with *Lactobacillus rhamnosus* Using Vinification Lees as Nutrients. *Journal Agricultural Food Chemistry* 52, 801-808.
- HIJOSA-VALSERO, M.; PANIAGUA-GARCÍA, A.I.; DÍEZ-ANTOLÍNEZ, R. (2017). Biobutanol production from apple pomace: the importance of pretreatment methods on the fermentability

of lignocellulosic agro-food wastes. *Applied Microbiology Biotechnology*, <https://dx.doi.org/10.1007/s00253-017-8522-z>

- HIJOSA-VALSERO, M.; GARITA-CAMBRONERO, J.; PANIAGUA-GARCÍA, A.I. (2021). Mannitol bioproduction from surplus grape musts and wine lees. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112083>
- PANDO BEDRIÑANA, R.; LOUREIRO RODRÍGUEZ, R.; RODRÍGUEZ MADRERA, R. & PICINELLI LOBO, A. (2023). *Magayas* de la elaboración de sidra: un producto de alto valor. Composición nutricional y antioxidante. *Tecnología Agroalimentaria: Boletín Informativo del SERIDA*, Nº 28: 26-31.
- RODRÍGUEZ MADRERA, R.; PANDO BEDRIÑANA, R.; GARCÍA BELLIDO, J. & SUÁREZ VALLES, B. (2016). Caracterización microbiológica y química de *borras* de sidra. *Tecnología Agroalimentaria: Boletín Informativo del SERIDA*, Nº 18: 53-57. ■

↓
Manitol: obtención en biorreactor y cristalización.

