

PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE *Candida utilis* (HENNEBERG) A PARTIR DE MELAZA

BIOMASS PRODUCTION OF *Candida utilis* (HENNEBERG) LODDER & KREGER FROM MOLASSES

María Luisa Carrillo Inungaray, Mayra Aguilar Zarate, Jorge Enrique Wong Paz, Diana Beatriz Muñiz Márquez.

Fecha de recepción 17 de Mayo de 2010

Fecha de aceptación 26 de Noviembre 2010

RESUMEN

Se obtuvo y purificó biomasa de la cepa comercial *Candida utilis* ATCC 9256 como inóculo para utilizarla en alimentos para consumo humano, a partir de melaza como sustrato, enriquecida con nitrógeno y vitaminas. Para determinar el mejor tratamiento y lograr el mayor rendimiento, se usó un diseño factorial 2X2 (2 y 4° Brix de concentración de azúcares y 10 y 15 ml de inóculo) incubado a 30° C durante 2 horas a 200 rpm para determinar el tratamiento con mejor rendimiento. El mayor rendimiento de biomasa lo presentó el tratamiento de 15 ml de inóculo y 2° Brix con 13.8 g l⁻¹ en base seca. A la biomasa se le determinaron proteínas, lípidos y carbohidratos (métodos de Kjeldahl, Soxhlet y Eynon y Lane, respectivamente), así como humedad por el método de calentamiento en estufa. Para reducir la cantidad de ácidos nucleicos la biomasa obtenida se purificó usando un tratamiento químico con HClO₄. Los resultados del análisis bromatológico de la biomasa fueron: 57.2 % de proteína, 7.0 % de lípidos y 10.9 % de carbohidratos, los cuales se compararon con el contenido nutrimental de leche, carne y

huevos, encontrando que la biomasa tiene más aporte proteico. También se evidenció disminución significativa ($p < 0.05$) del contenido de ácidos nucleicos, lo que permite considerar su uso en el enriquecimiento de alimentos para consumo humano.

PALABRAS CLAVE: Proteína unicelular, melaza, ácidos nucleicos.

ABSTRACT

Biomass of the commercial strain of *Candida utilis* ATCC 9256 was obtained and purified and used as inoculum to elaborate food for human consumption, from molasses as substrate, enriched with nitrogen and vitamins. To determine the best treatment and achieve a better performance, a factorial design 2X2 was used (2 to 4° Brix concentration of sugars, 10 and 15 ml of inoculum) incubated at 30° C for 2 hours at 200 rpm to determine the treatment with the best performance. The highest biomass yield was obtained by the

Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca; Calle Romualdo del Campo 501, Fracc. Rafael Cuñiel, Cd. Valles, S.L.P., C.P. 79060, México.

¹Autor para correspondencia: maluisa@uaslp.mx

U. Tecnociencia 4 (2) 32 - 40.

treatment of 15 ml of inoculum and 2° Brix to 13.8 g l⁻¹ dry weight. The biomass was analyzed for protein, lipids and carbohydrates (Kjeldahl methods, Soxhlet and Eynon and Lane, respectively) and moisture by oven heating method. To reduce the amount of nucleic acids the obtained biomass was purified using a chemical treatment with HClO₄. The results of compositional analysis of biomass were: 57.2 % protein, 7.0 % lipids and 10.9 % carbohydrates, which were compared with the nutrient content of milk, meat and eggs, finding that the biomass has more protein intake. Also the nucleic acids content showed a significant decrease ($p < 0.05$), which allows us to consider its use in food enrichment for human consumption.

KEY WORDS: Single cell protein, molasse, nucleic acids.

INTRODUCCIÓN

Debido al incremento de la población mundial es necesario aumentar la calidad de los alimentos consumidos, por tal razón existen estudios orientados a encontrar nuevas fuentes proteicas. Las proteínas para consumo humano se obtienen principalmente de animales y algunos vegetales como los cereales (Díaz y Gualtieri, 2003).

Como alternativa de fuente proteica se considera a la proteína unicelular; que es la biomasa microbiana obtenida de algas, bacterias, levaduras y hongos filamentosos,

cultivados en condiciones fermentativas apropiadas y controladas que garanticen una adecuada tasa de crecimiento, por medio del aprovechamiento de sustratos de bajo costo, compuestos o enriquecidos con carbono, nitrógeno y fósforo (Chacón, 2004).

Las fuentes proteicas no convencionales se pueden obtener de una gran variedad de microorganismos que contienen una elevada concentración de proteínas en su composición y son capaces de reproducirse en medios muy variados (Pedraza, 2000). La producción de proteína unicelular tiene importantes ventajas sobre otros recursos proteicos, tales como el corto tiempo de producción y que no altera las condiciones del ambiente (Chacón, 2004).

Entre los sustratos para la producción de biomasa en que pueden reproducirse los microorganismos se encuentran algunos desechos agroindustriales ricos en carbohidratos (Ferrer *et al.*, 2004), tales como los extractos obtenidos de desechos de hojas de col o repollo (*Brassica oleracea* L.), que mostraron ser excelentes para el desarrollo de *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomices cerevisiae* (Choi and Park, 2003). También los hidrolizados de residuos de madera de *Eucalyptus globulus* Labill. han permitido la reproducción de *C. utilis* obteniendo hasta un 88 % de proteína (Parajó *et al.*, 2000). Por otra parte la cachaza, el bagazo y la melaza, se han usado como sustratos para el crecimiento de microorganismos (Ferrer *et al.*, 2004). La melaza, es considerada el sustrato más relevante en la elaboración de medios de cultivo a partir de residuos agroindustriales para la producción de proteína unicelular debido a que es

un residuo de bajo costo que se genera en gran cantidad (Ramos *et al.*, 2000).

Las características organolépticas y funcionales de la biomasa microbiana no siempre han sido atractivas para los consumidores y por lo tanto tampoco para la industria alimentaria. Sin embargo, recientemente los avances en las tecnologías de fermentación y la ingeniería genética han permitido retomar su producción (García *et al.*, 2004) y aunque desde hace décadas se propuso su uso, se encontraron inconvenientes relacionados con la seguridad de su consumo, tales como el alto contenido de ácidos nucleicos (4-6 % en algas, 6-10 % en levaduras, 2.5-6 % en hongos) cuya acumulación en el organismo es dañina para la salud, la presencia de sustancias tóxicas adsorbidas de los sustratos que se utilizan para la obtención de la biomasa, además la digestión lenta de las células microbianas en el tracto digestivo pueden causar indigestión y reacciones alérgicas (Curiel y González, 2008). Sin embargo, en este trabajo se plantea el potencial de la biomasa microbiana como un aditivo proteico, una vez que se ha sometido a un proceso de purificación para disminuir la cantidad de ácidos nucleicos, con el propósito de obtener biomasa de *Candida utilis* a partir de melaza y disminuir su contenido de ácidos nucleicos, así como comparar su composición química con la de alimentos convencionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó la revitalización de la cepa comercial de *Candida utilis* ATCC 5296, de acuerdo a las técnicas tradicionales en microbiología para el aislamiento de microorganismos (Koneman *et al.*, 1983). Se inoculó en tubos con 10 ml de caldo extracto de malta, los cuales se incubaron a 27° C durante 24 horas. Posteriormente, la levadura se resembró en tubos con Papa Dextrosa Agar y se incubaron durante 24 horas a 27° C.

El medio de cultivo se preparó con 30 g. de melaza y se disolvieron en 1 L de agua potable hasta obtener una solución de 2° Brix, medidos con sacarímetro marca *Robsan*®. Simultáneamente se preparó un medio de cultivo con 4° Brix utilizando 60 g. de melaza disuelta en 1 L de agua potable. A las soluciones anteriores se les agregaron 3 g. de urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) marca *Fermont*®, 2 g de fosfato ácido de potasio (KH_2PO_4) marca *Fermont*® y 1.3 g de extracto de malta marca *Difco*®, todos los reactivos usados fueron de grado analítico. Ambos medios enriquecidos (de 2 y 4° Brix), se esterilizaron a 121 °C durante 15 minutos en autoclave marca *Sterilizer SM200*®.

Para la preparación del inóculo, se utilizó un cultivo de *C. utilis* de 5 días para inocular matraces de 250 ml con 40 ml del sustrato a 2 y 4° Brix respectivamente. El inóculo se mantuvo en fermentación con agitación mecánica a 200 rpm durante 20 horas a 30° C en una incubadora con agitación marca *IKA KS 4000*®. Transcurridas las 20 horas se inocularon cuatro matraces de 1 L con 180 ml de sustrato (dos a 2° Brix y dos a 4° Brix), tomando 5 ml del inóculo anterior con una

concentración de 3×10^8 UFC/ml, de acuerdo al nefelómetro de McFarland (Díaz *et al.*, 1999), se incubaron con las mismas condiciones del procedimiento anterior.

Una vez acondicionada la levadura y transcurridas las 20 horas de incubación, para obtener la fermentación aeróbica, se inocularon 5 matraces con 200 ml del sustrato de melaza a 2 y 4° Brix respectivamente, tomando en cuenta dos variables del volumen de inóculo, 10 y 15 ml de solución del matraz con 180 ml, para cada uno de ellos, considerando las mismas condiciones de incubación, agitación mecánica, durante 20 horas a 30° C, en el equipo IKA KS 4000®.

La curva de crecimiento celular de *C. utilis* se realizó a partir de la medición de la densidad óptica, del sustrato inoculado en espectrofotómetro Genesis UV 10®, a 600 nm cada hora durante 20 horas (Becker *et al.*, 1999).

Al concluir el tiempo de fermentación de los matraces inoculados con 200 ml, la mezcla obtenida se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 30°C en una centrífuga marca Thermo Scientific IEC® y finalmente se separó y se obtuvo la biomasa del sustrato por decantación.

El rendimiento en base húmeda se obtuvo por diferencia de pesos. Se procedió de la misma manera para obtener el rendimiento en base seca, con un previo secado a 44° C en estufa de convección marca Lindberg/blue modelo UT150® hasta obtener un peso constante.

A la biomasa obtenida se le determinó la cantidad de proteínas, lípidos, carbohidra-

tos y humedad por los métodos de Kjeldahl, Soxhlet, Eynon y Lane y calentamiento en estufa de aire respectivamente (AOAC, 1990).

Para la reducción de ácidos nucleicos, la biomasa de *C. utilis* se sometió a un tratamiento con HClO₄ marca Fermont® en caliente (Otero *et al.*, 2000). Se llevó a cabo una lisis celular utilizando el equipo Vortex Thermolyne® durante tres minutos y centrifugando durante cinco minutos a 3000 rpm para cada lavado, separando y recopilando el sobrenadante resultante. Para eliminar el exceso de HClO₄ de la biomasa se realizaron 3 lavados con agua destilada, centrifugando y eliminando el sobrenadante de la misma manera.

A la biomasa purificada con HClO₄ se le extrajo el ADN (Sambrook y Russell, 2001), utilizando 100 µl del reactivo PrepMan marca Applied Biosystems®, para posteriormente cuantificar la cantidad de ácidos nucleicos obtenidos de la precipitación de ADN. En el protocolo se utilizaron los siguientes reactivos: buffer TAE 1X marca Ambion®, acetato de sodio 3 M marca Sigma®, e isopropanol marca Sigma®. La concentración de ADN se determinó a partir de la absorbancia medida en un espectrofotómetro marca Génesis 10UV®, a una longitud de onda de 260 nm para obtener la cantidad en µg ml⁻¹ de ADN en la muestra mediante la fórmula: Concentración de ADN (µg ml⁻¹) = $50 \mu\text{g ml}^{-1} \times \text{DO}_{260} \times \text{factor de dilución}$. Donde: DO = Es la densidad óptica a 260 nm. Constante 1 densidad óptica a 260 nm = 50 µg ml⁻¹ de ADN.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con las condiciones para la producción de biomasa de *C. utilis*, en el sustrato con 2° Brix de concentración inoculado con 15 ml del pie de cuba, se obtuvieron 13.8 g l⁻¹ de biomasa en base seca, mientras que en el sustrato con 4° Brix con 10 ml de inóculo se obtuvieron 5.92 g l⁻¹ en base seca (Cuadro 1). Por lo tanto, el tratamiento de 15 ml del pie de cuba, inoculados a un sustrato con 2° Brix, fueron las condiciones que se usaron para la producción de biomasa.

Cuadro 1. Comparación del rendimiento de biomasa obtenido a 2 y 4° Brix.

Variable en el sustrato	Volumen del inóculo (ml)	Rendimiento (g/l)	
		Biomasa Húmeda	Biomasa seca
2°Bx	10	12	9.61
	15	19.7	13.8
4°Bx	10	8	5.92
	15	15.2	11.28

Se realizó la cinética de crecimiento de la levadura. La curva de crecimiento de *C. utilis* se ajustó con el programa DMFit (Baranyi *et al.*, 1993). La fase de latencia es menor a una hora, tiempo en que inició el crecimiento exponencial y se alcanzó un crecimiento máximo a las nueve horas, tiempo en que inició la fase estacionaria (Figura 1). La duración de la fase exponencial en la cinética de crecimiento de *C. utilis*, es similar a trabajos con un crecimiento máximo de *C. utilis* de 8 horas (Gualtieri *et al.*, 2007). De acuer-

do a estos resultados y en las condiciones en el que se desarrolló este trabajo, se recomienda que para obtener biomasa de *C. utilis*, son suficientes 9 horas de fermentación aeróbica. Ya que se obtuvieron 13.8 g l⁻¹ en base seca y 19.78 g l⁻¹ en base húmeda.

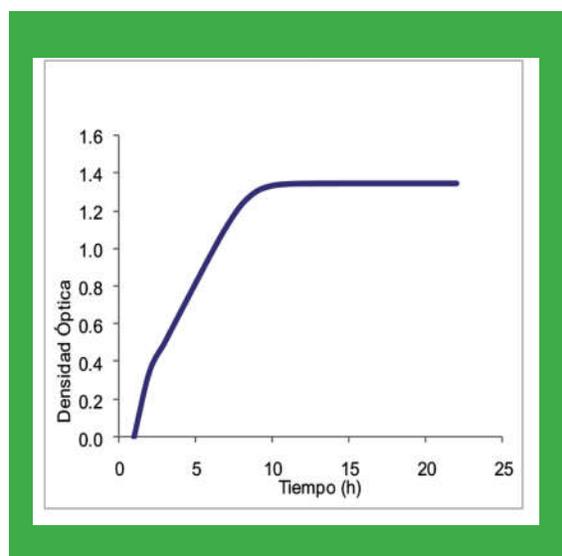


Figura 1. Curva de crecimiento de cepas de *Candida utilis*, para la elaboración de sustrato como complemento alimenticio

Los resultados indican diferencia en el rendimiento en base seca de los análisis bromatológicos de la biomasa obtenida, comparados con reportes previos utilizando como sustrato café así como la melaza (Cuadro 2). La cantidad de nutrientes en la biomasa indican que con la utilización de melaza en el presente trabajo se obtienen mejores rendimientos que los reportados con otros trabajos al hacer la comparaciones con otros alimentos convencionales (Cuadro 3).

La biomasa seca y la biomasa húmeda se trataron con HClO₄, cuantificando el ADN antes y después del tratamiento y se presentan las

comparaciones con otros alimentos como huevo, leche y carne en cuanto a contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos (Cuadro 4).

En este trabajo se obtuvieron 13.8 g l⁻¹ en base seca de biomasa de *C. utilis*. Esta cantidad es mayor que la reportada al utilizar extracto de café enriquecido con sales nutritivas, con el cual se obtuvieron 10 g l⁻¹ de biomasa (Gualtieri *et al.*, 2007) y al utilizar melaza como sustrato, obteniendo 2.96 g l⁻¹ (Hernández, 2009). Asimismo, se confirmó que las levaduras contienen más del 40% de proteínas (Gutiérrez Ramírez y Gómez Rave, 2008), lo que se considera adecuado para el consumo de estos microorganismos (Nigan, 2000).

Cuadro 2. Cantidad de biomasa en peso seco reportada por diferentes autores.

Autores	Rendimiento en base seca (g/L)	Sustrato utilizado
Gualtieri <i>et al.</i> , 2007	10.00	Café
Hernández, 2009	2.96	Melaza
Muñiz <i>et al.</i> , 2010	13.8	Melaza

El análisis bromatológico indicó un elevado contenido de proteínas en relación con los otros macronutrientes presentes en la biomasa de *C. utilis*, el cual se comparó con las cantidades presentes en algunos alimentos convencionales (Forschungsanstalt y München, 1991), se encontró que el contenido de proteína en la biomasa es mayor que el de la leche, la carne y el huevo. Los lípidos se encuentran en menor cantidad que en la carne y el huevo, pero en mayor cantidad que en la leche. El contenido de carbohi-

Cuadro 3. Análisis bromatológico de la biomasa de *Candida utilis*.

Determinación	Contenido (%)	Contenido (%)*
Proteínas	49.95	45-56
Carbohidratos	10.88	30-45
Lípidos	7.00	2-6
Humedad	77.83	70-75
Fibra cruda	0.55	-

*Reportado por Chacón, 2004; Fajardo y Sarmiento, 2007.

Cuadro 4. Contenido de macronutrientes en biomasa de nutrimental de la biomasa de *Candida utilis* y algunos alimentos convencionales.

Determinación	Biomasa <i>C. utilis</i>	Resultados (%)		
		Huevo	Leche	Carne
Proteína	49.95	12.5	3.3	15.2
Lípidos	7.00	11.1	3.6	20.5
Carbohidratos	10.88	0.40	5.0	0.0

Fuente: Forschungsanstalt y München, 1991.

dratos es mayor que el del huevo, la leche y la carne. El consumo de esta proteína es adecuado para la población en general, sin embargo, las personas con problemas para la utilización de la glucosa, deberán considerar el aporte de carbohidratos en este producto. Estos resultados sugieren que la biomasa de *C. utilis* podría emplearse para enriquecer el aporte nutricional de alimentos para consumo humano, después de un proceso de purificación de la biomasa.

Cuadro 5. Contenido de DNA en las muestras de biomasa de *Candida utilis*.

Muestra de Biomasa	[DNA] (gml ⁻¹ /g de biomasa)	PRAN	PPR
Seca sin purificar	0.45		
Seca purificada	0.093	78.97	90.66
Húmeda sin purificar	0.16		
Húmeda purificada	0.072	61.69	91.9

PRAN: Porcentaje de reducción de ácidos nucleicos; PPR: Porcentaje de proteína recuperada.

Al cuantificar los ácidos nucleicos se observó que la reducción de ADN de la biomasa fue mayor en la muestra seca (78.97 %) que en la muestra húmeda (61.69 %). Sin embargo, a pesar de haber un mayor porcentaje de reducción de ácidos nucleicos (PRAN) y en el porcentaje de proteína recuperada (PPR) (90.66 %) en la biomasa seca, después del tratamiento, cabe resaltar que la cantidad de ADN final es menor en la biomasa húmeda purificada (0.072 g ml⁻¹ g⁻¹ de biomasa) con un alto grado de recuperación (91.9 %). El contenido final de ácidos nucleicos, hace comparable a la biomasa obtenida con otros alimentos (Forschungsanstalt y München, 1991). La estimación de la cantidad de ácidos nucleicos presentes en la biomasa obtenida se llevó a cabo a partir del porcentaje de purinas considerando el porcentaje de proteína recuperada (Cuadro 5), debido a que se les atribuye un efecto nocivo cuando se consumen en exceso en los alimentos, ocasionando la acumulación de ácido úrico (Mathews *et al.*, 2002).

Tomando como base a la cantidad de ADN reportado en esta investigación para la biomasa de *C. utilis* purificada, la FAO recomienda una ingesta de 2 g por día de ácidos nucleicos (FAO/UNICEF, 1970), incluyendo el aporte de ácidos nucleicos de otros alimentos convencionales. Por lo anterior, se sugiere que el uso de la biomasa en la elaboración de alimentos para consumo humano sea menor de 28 g diarios, que equivale a 13.9 g de proteína verdadera.

CONCLUSIÓN

La melaza constituye un sustrato adecuado para el crecimiento celular de *C. utilis*. La disminución en la concentración de ácidos nucleicos, por medio de la purificación realizada a la biomasa producida, el alto rendimiento en un periodo corto de tiempo y el valor nutritivo de la misma, permiten re-

Cuadro 6. Contenido de ácidos nucleicos en alimentos convencionales y en la biomasa de *C. utilis*.

Alimento	% de ácidos nucleicos (purinas)
Hígado vacuno	0.90 de purinas
Sesos de cerdo	2.00 de purinas
Sardinias en aceite	0.48 de purinas
Biomasa purificada	4.66 de purinas*

*Dato calculado según lo reportado por FAO, 1968.

comendar su utilización como complemento proteico en la alimentación humana. Además, constituye una alternativa para el aprovechamiento de residuos agroindustriales.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por el apoyo brindado a través del Fondo de Apoyo a la Investigación (Convenio C10-FAI-05-63.92) y al M.C. Liborio Martínez Cruz por su apoyo en la parte experimental de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C., USA.
- Baranyi, J.; Roberts, T. A. and McClure, P. 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiol.*, (10) 43-59.
- Becker, J. M.; Caldew, G. A. y Zachgo, E. A. 1999. *Bioteología: Curso de prácticas de laboratorio*, 2a. Ed. Acribia. España.
- Chacón, A. 2004. Perspectivas actuales de la proteína unicelular (SCP) en la agricultura y la industria. *Agron. Mesoamericana*, 15(1) 93-106.
- Choi, M. H. and Park, Y. H. 2003. Production of yeast biomass using waste Chinese cabbage. *Biomass and Bioenergy*, 25 (2) 221-226.
- Curiel, U. C. E. y González, H. D. M. 2008. Enriquecimiento proteico de un subproducto de la industria azucarera. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México.
- Díaz, M. S. A. y Gualtieri, M. 2003. Producción de proteína unicelular a partir de desechos de vinaza. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 45(2) 23-26.
- Díaz, R., C. Gamazo y I. López-Goñi. 1999. *Manual Práctico de Microbiología*, 2ª edición, 45-48. Ed. Masson, Barcelona, España.
- FAO/UNICEF. 1970. Single Cell Protein. PROTEIN Advisory Group, Thechnical Report No. 4. <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/AFRIS/Data/734.htm>
- Ferrer, J. R.; Davalillo, Y.; Chandler, C.; Páez, G.; Mármol, Z. y Ramones, E. 2004. Producción de proteína microbiana a partir de desechos del procesamiento de la caña de azúcar (bagacillo). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 12(2) 59-65.
- Forschungsanstalt, D. y München, G. 1991. Tablas de composición de alimentos. 2ª Ed. Acribia. España.
- García, G. M.; Gómez, R. L. and Bárzana, E. 2004. Single cell protein: yeasts and bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology*.
- Gualtieri, M. J.; Villalta, C.; Díaz, L. E.; Medina, G.; Lapena, E. y Rondón, M. E. 2007. Producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis* usando residuos de pulpa de *Coffea arabica* L. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 32(2) 25-27.
- Gutiérrez Ramírez, L. A. y Gómez Rave, A. J. 2008. Determinación de proteína total de *Candida utilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en bagazo de caña. *Revista Lasallista de Investigación*, 5(1), 61-64.
- Hernández, A. G. 2009. Producción de proteína unicelular a partir de melaza. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México.
- Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Dowell, V. R. and Sommers, H.M. 1983. Diagnóstico microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Ar.
- Mathews, C. K.; Van-Holde, K. E. y Ahern, K. G. 2002. *Bioquímica*. Pearson Educación. España.
- Nigan, J. N. 2000. Cultivation of *Candida longirovii* in sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolyzate for the production of single cell protein. *World J. Microbio. and Biotech.* 16: 367-372.
- Otero, M. A.; Cabello, A.; Vasallo, M. C.; García, L. y López, J. 2000. Tecnología para la utilización integral de la levadura de cerveza en la industria alimenticia. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, (50) 4.
- Parajó, J. C.; Santos, V.; Domínguez, H. and Vázquez, M. 2000. Protein concentrates from yeast cultured in wood hydrolysates. *Food Chemistry*, (53) 157-163.
- Pedraza, R. M. 2000. Bagazo rico en proteína (Bagarip). Alimento animal obtenido por fermentación en estado sólido. *Revista Producción Animal*, 12(1) 45-51.
- Ramos, L. B.; Parra, C. y García, A. 2000. Formulación de medios de cultivo a partir de residuos agro industriales. Optimización del crecimiento de *Candida utilis* en residuos de la industria azucarera. *Centro Azúcar*, (3) 9-20.
- Sambrook, J. and Russell, W. D. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3ra Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY, USA.

Forma correcta de citar este trabajo:

Carrillo-Inungaray, M. L.; Aguilar-Zarate, M.; Wong-Paz, J.E. y Muñoz-Márquez, D.B. 2010. Producción de biomasa de *Candida utilis* (Henneberg) a partir de melaza U. *Tecnociencia* 4 (2) 32 - 40.