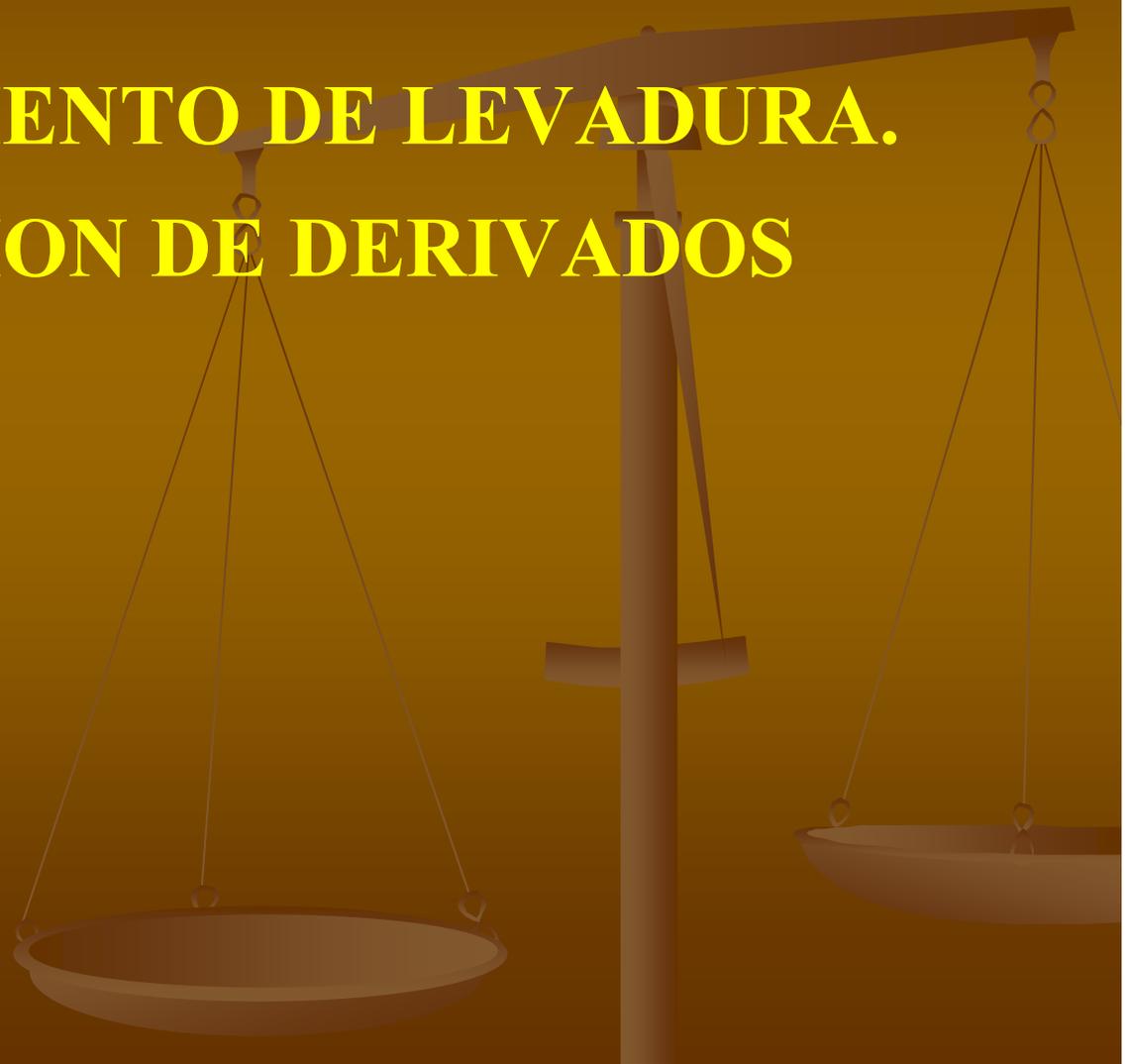
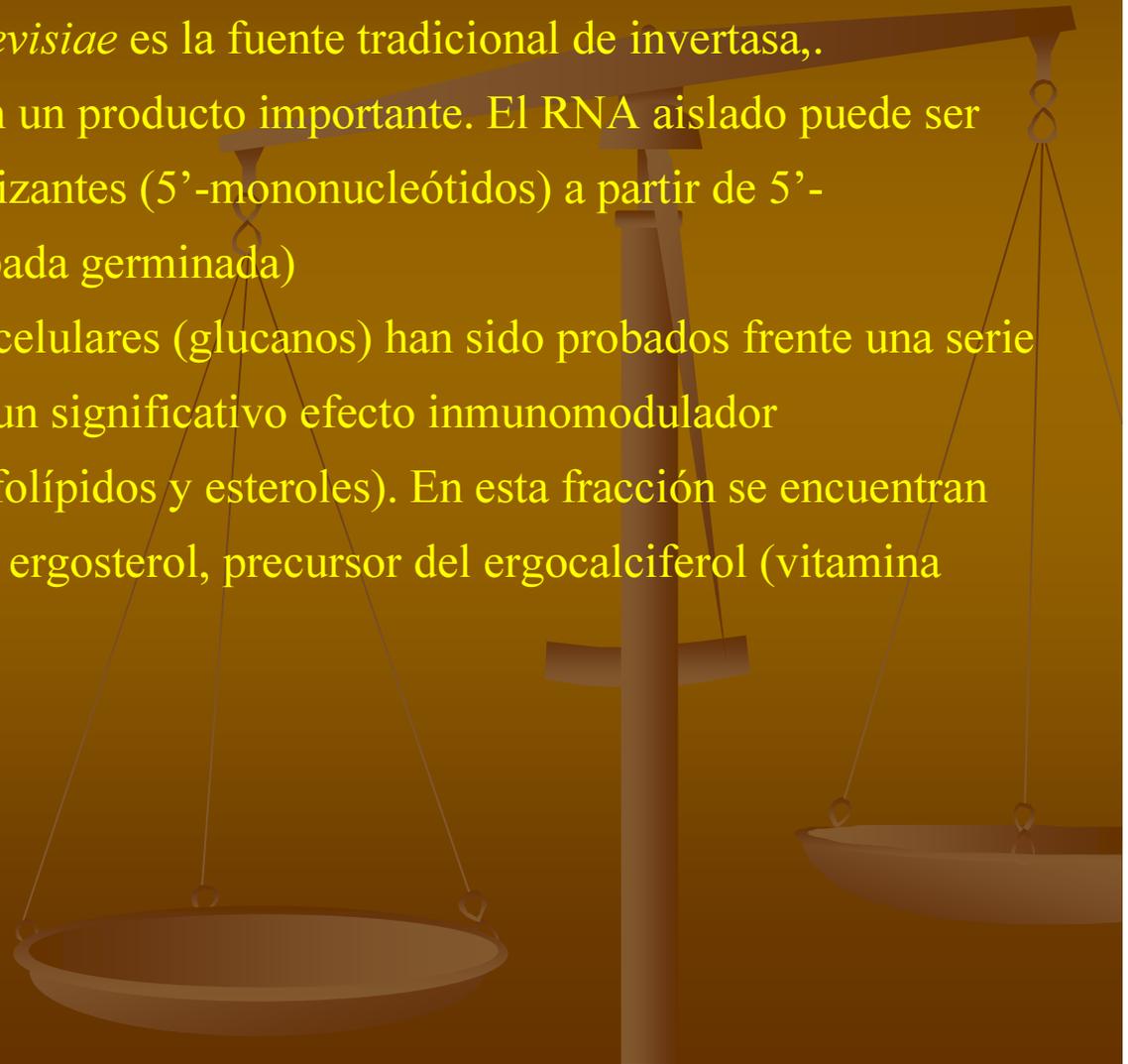


**PROCESAMIENTO DE LEVADURA.
OBTENCION DE DERIVADOS**



La biomasa de levadura como materia prima en la industria

- Suplemento nutricional o saborizante
- Las levaduras contienen alrededor de 50% de proteínas susceptibles de obtener como concentrados o aislados de proteínas.
- La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la fuente tradicional de invertasa,.
- Los ácidos nucleicos son también un producto importante. El RNA aislado puede ser transformado en nucleótidos saborizantes (5'-mononucleótidos) a partir de 5'-fosfodiesterasas (raicillas de la cebada germinada)
- Los polisacáridos de las paredes celulares (glucanos) han sido probados frente una serie de estados patológicos mostrando un significativo efecto inmunomodulador
- Los lípidos (triacilglicéridos, fosfolípidos y esteroides). En esta fracción se encuentran también cantidades importantes de ergosterol, precursor del ergocalciferol (vitamina D2).

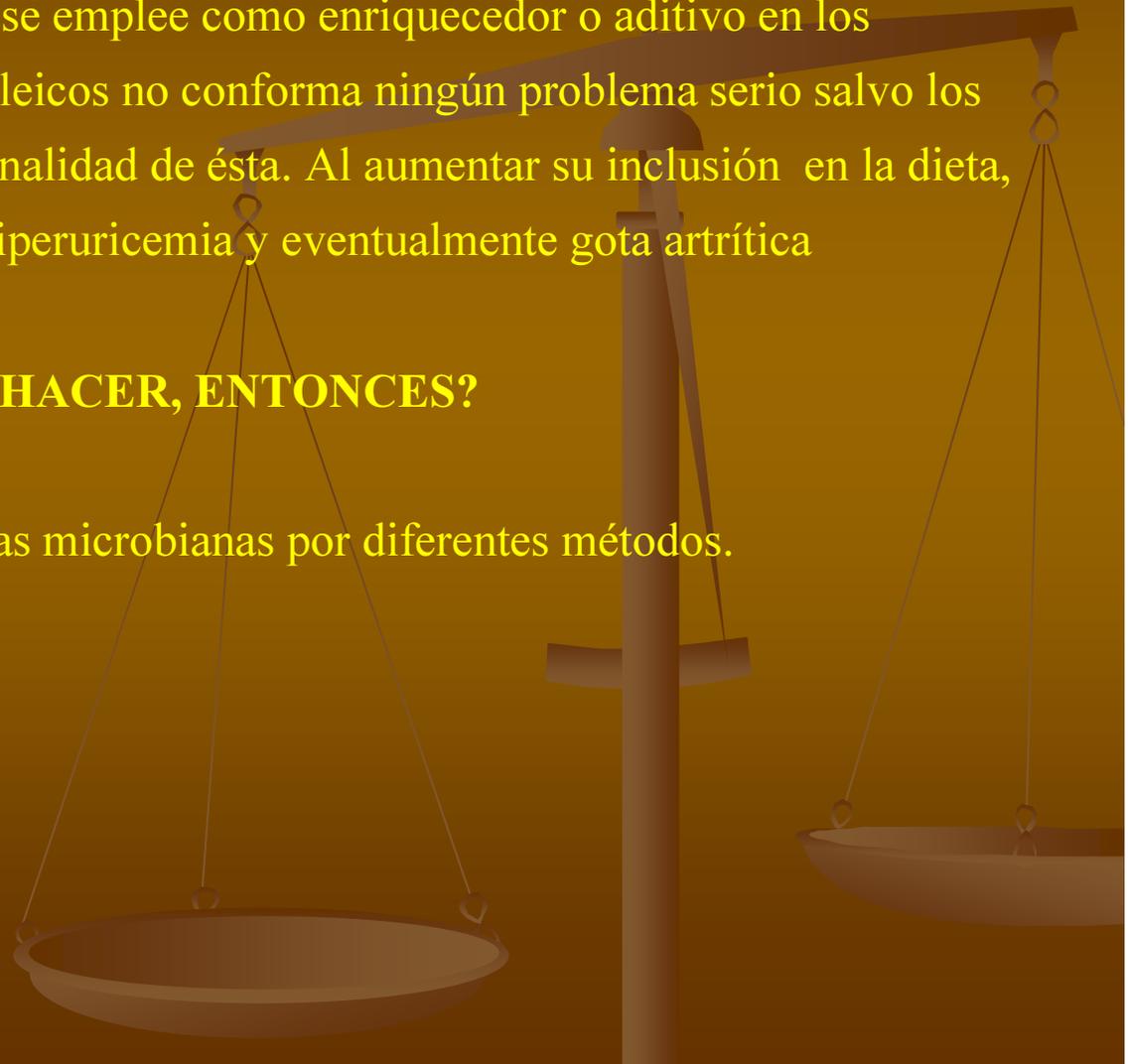


Uso de las levaduras como fuente de proteínas en la alimentación humana

- Contienen entre 5 y 13% de ácidos nucleicos en dependencia de su tasa de crecimiento y la fase de éste que se esté analizando.
- Deseables las elevadas productividades (Kg/m³-hora)
- En tanto que la proteína de levadura se emplee como enriquecedor o aditivo en los alimentos, el contenido de ácidos nucleicos no conforma ningún problema serio salvo los relacionados con la pérdida de funcionalidad de ésta. Al aumentar su inclusión en la dieta, comenzarán a aparecer síntomas de hiperuricemia y eventualmente gota artrítica

¿QUÉ HACER, ENTONCES?

- El RNA puede extraerse de las células microbianas por diferentes métodos.



Propagación



Biomasa I
Alto ARN

Tratamiento

Extracción ARN



Centrifugación



Fracción soluble



Precipitación ARN



Secado



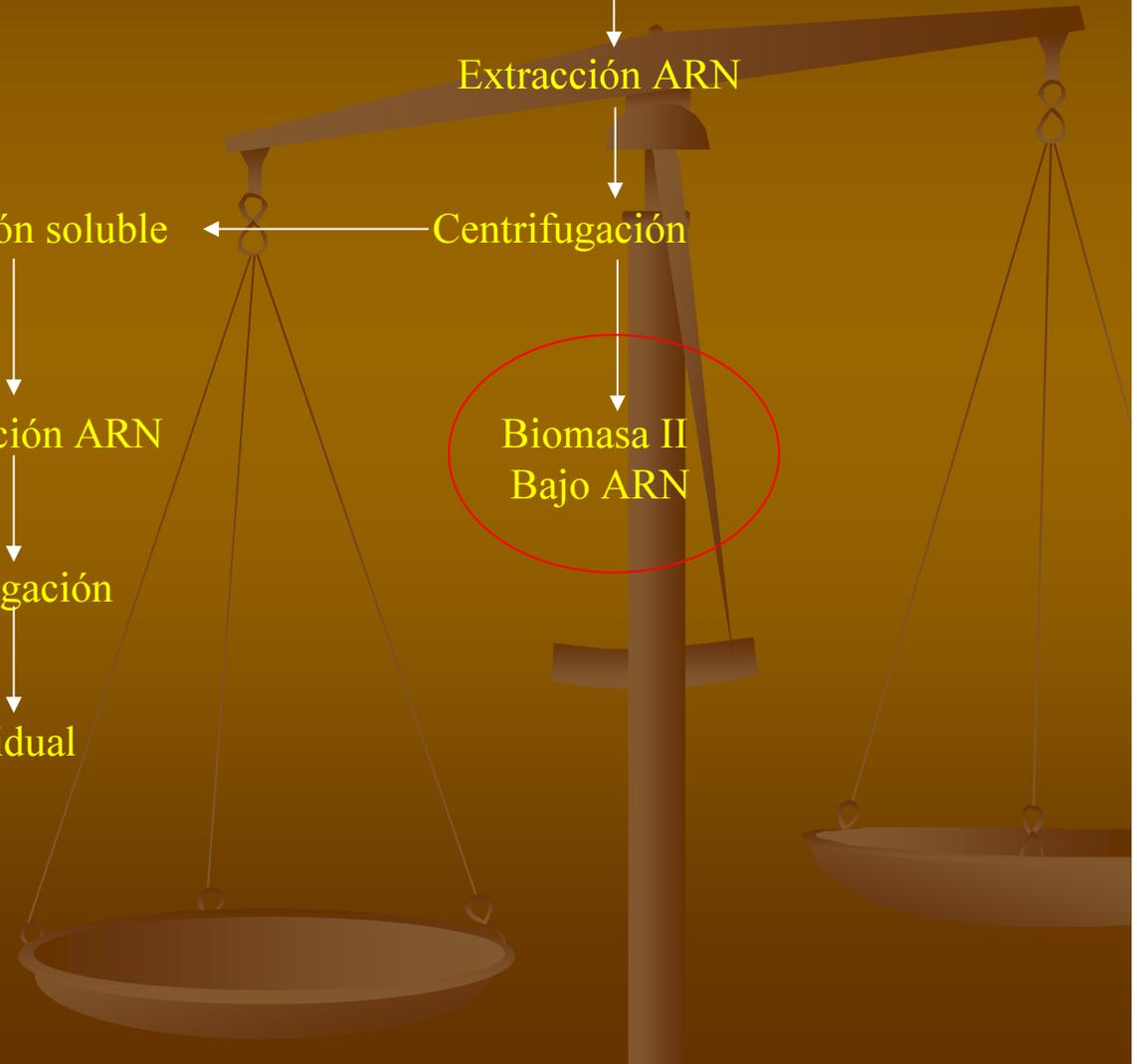
ARN
Amorfo

Centrifugación



Residual

Biomasa II
Bajo ARN



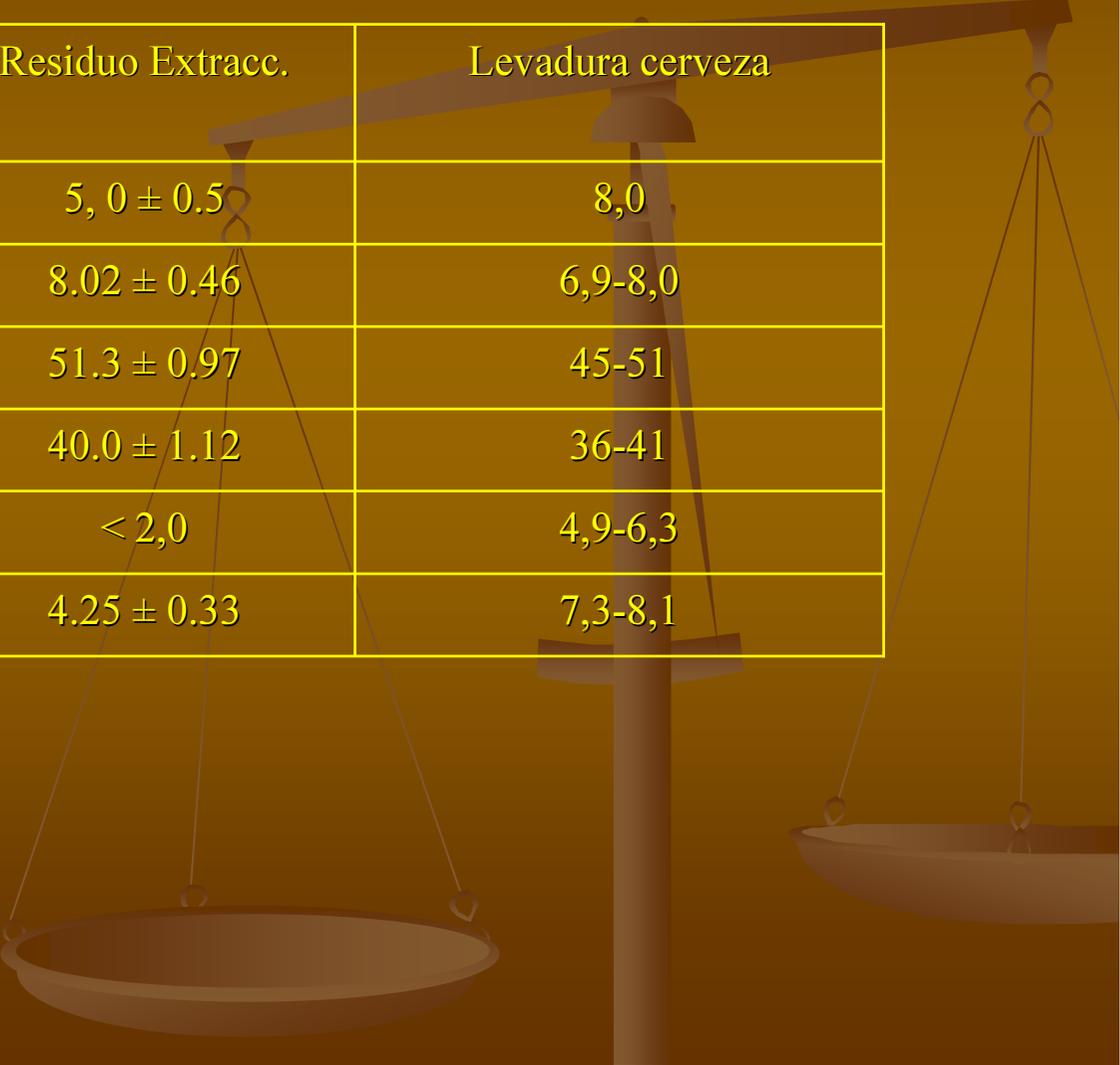
Biomasa II Bajo ARN

Opción I: Alimento animal
280-300 USD/t

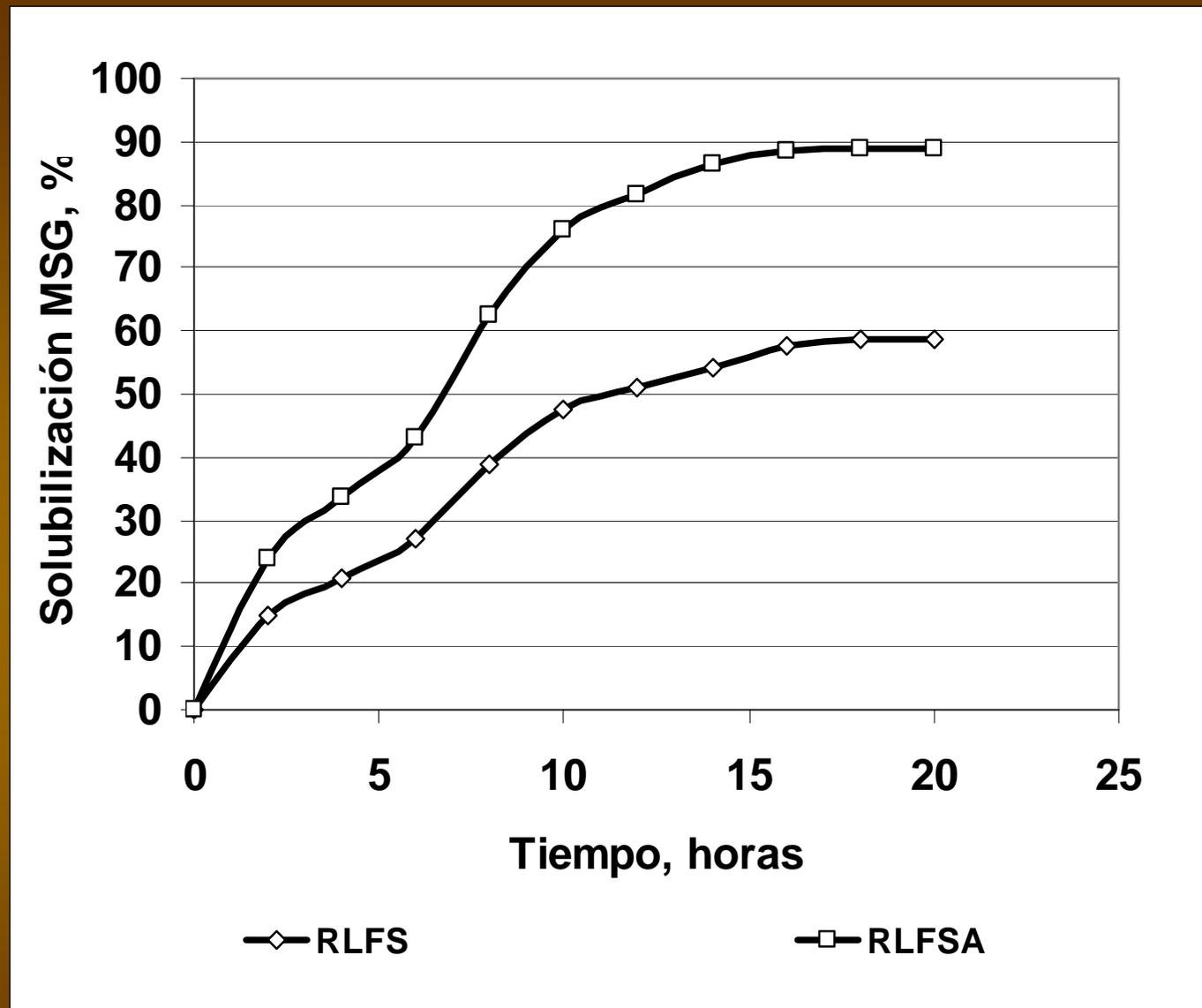
80% de la biomasa total

**Opción II: Conversión en extracto
de levadura**
4,0-6,0 USD/Kg

Composición del residuo de extracción de ARN en células de *Candida utilis* y de levadura de cerveza comercial



Componente, %	Residuo Extracc.	Levadura cerveza
Humedad	5, 0 ± 0.5	8,0
Nitrógeno orgánico	8.02 ± 0.46	6,9-8,0
Proteína Kjeldahl (Nx6.25)	51.3 ± 0.97	45-51
Proteína verdadera	40.0 ± 1.12	36-41
Ácidos nucleicos	< 2,0	4,9-6,3
Cenizas	4.25 ± 0.33	7,3-8,1



Comparación entre la solubilización del residuo de extracción de ARN en presencia de sal y levadura panadera fresca (*Saccharomyces cerevisiae*) con (RLFS) y sin Alcalasa (RLFS)

La literatura sobre el desarrollo de procesos de autólisis de materiales, utilizando las enzimas autolíticas de levadura como catalizador son muy escasos (Hobson y col, 1995; Nakajo y Sano, 2002).

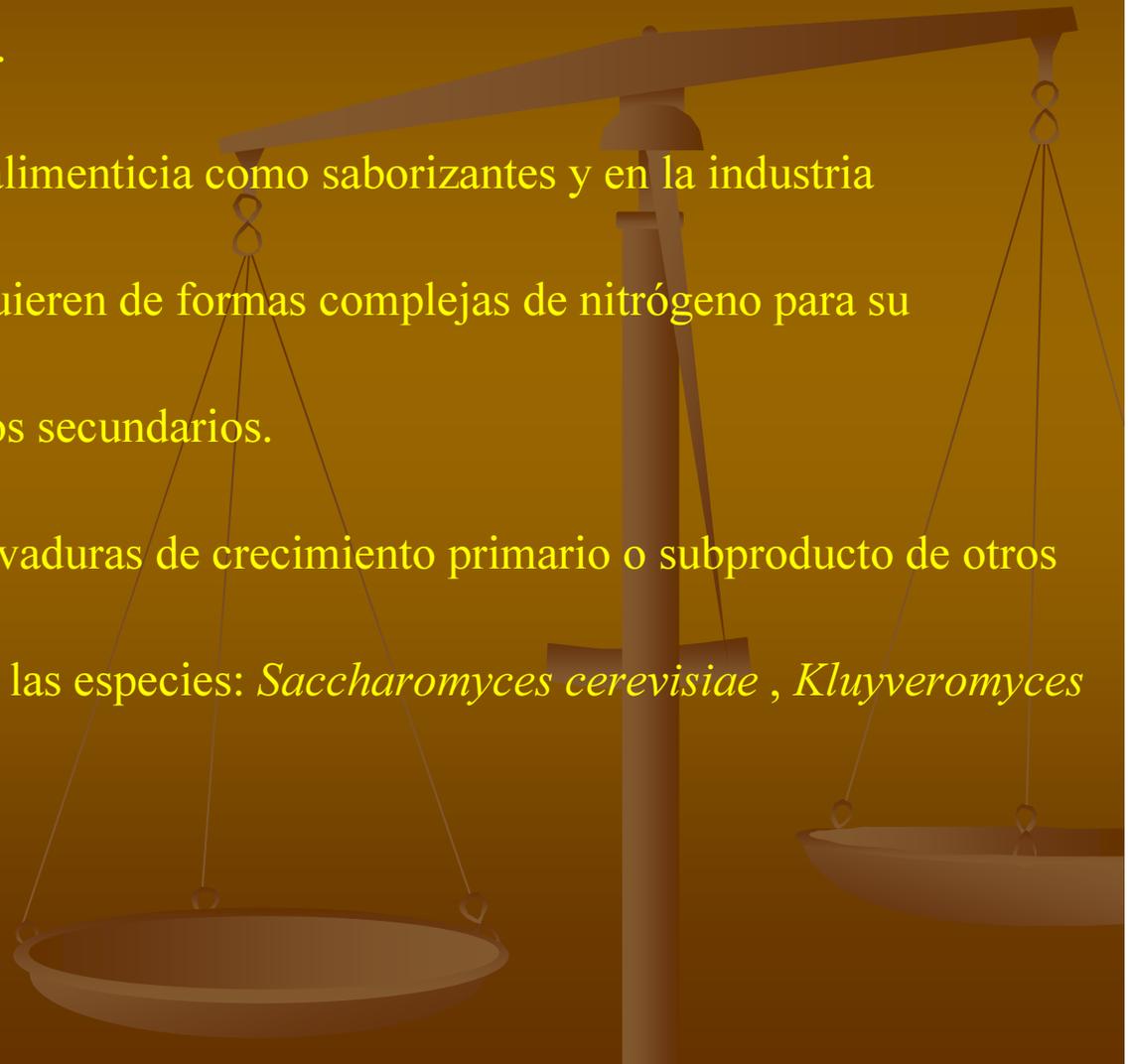
Las condiciones del procesamiento son similares en relación con la temperatura, tiempo de residencia etc., a la desarrollada en nuestros laboratorios, el proceso propuesto solo emplea 5% de la biomasa total como levadura fresca, especialmente *Saccharomyces cerevisiae*, en tanto que los mencionados anteriormente, parten de suspensiones entre 10 y 14% de levaduras vivas.

Hobson, J.C., Anderson, D.A.G. Method of preparing yeast extract containing hydrolyzed non-yeast protein with yeast autolytic enzymes United States Patent 5427921. 1995

Nakajo, Y., Sano, H. Yeast extract composition, yeast for obtaining the same, and process for producing yeast extract composition. United States Patent 6344231. 2002

Extractos de levadura

- Son concentrados de los componentes solubles de las células obtenidos de forma predominante a partir de la autólisis.
- Su uso principal es en la industria alimenticia como saborizantes y en la industria microbiológica en procesos que requieren de formas complejas de nitrógeno para su propagación y síntesis de metabolitos secundarios.
- Se obtiene fundamentalmente de levaduras de crecimiento primario o subproducto de otros procesos fermentativos (cerveza) de las especies: *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* o *Candida utilis*.

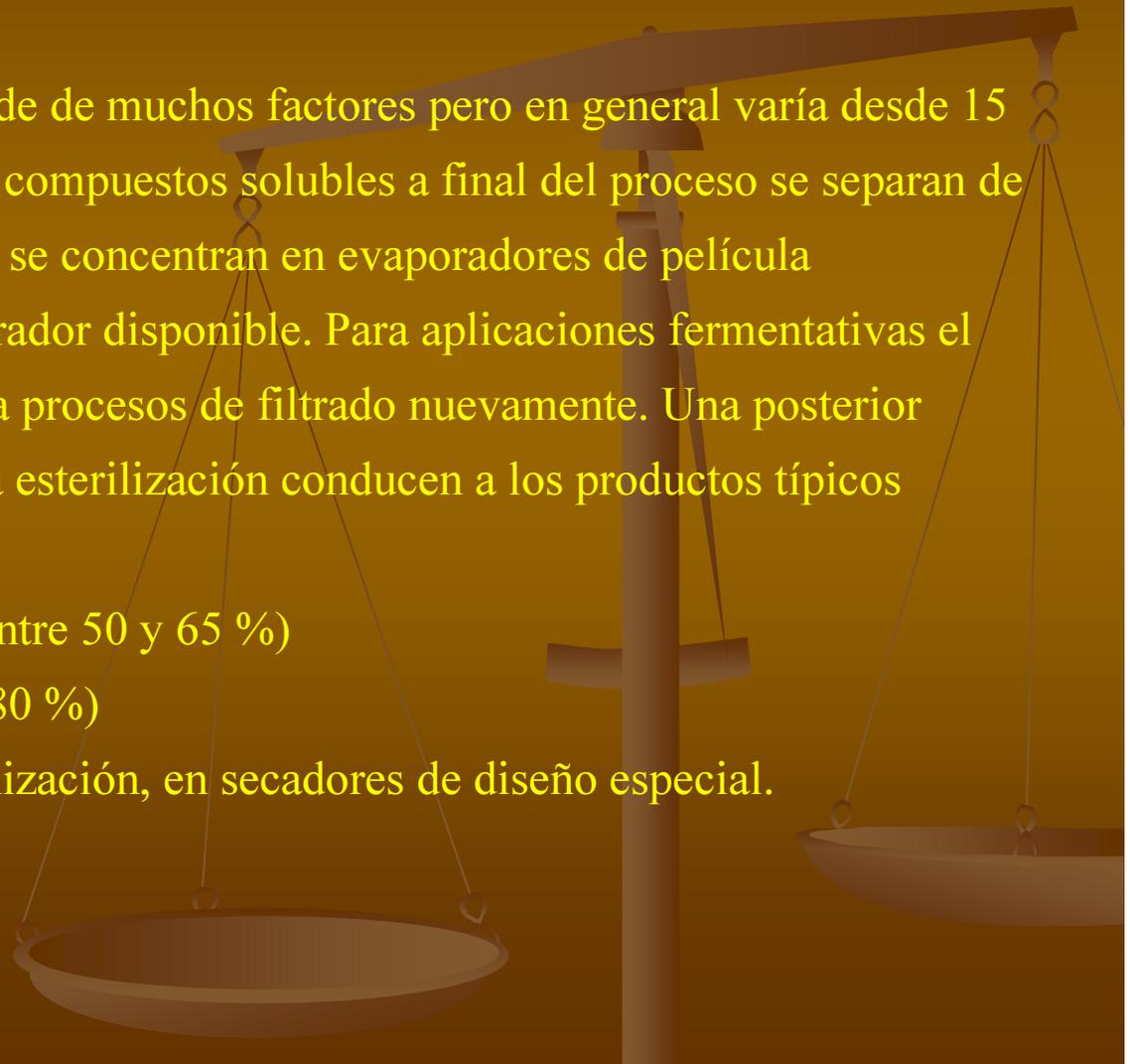


Otros métodos utilizados en la producción de extractos son:

- termólisis (calentamiento a 100 °C)
- plasmólisis (altas concentraciones de sales a temperaturas moderadas)
- desintegración mecánica

La duración de la autólisis depende de muchos factores pero en general varía desde 15 horas hasta más de 60 horas. Los compuestos solubles a final del proceso se separan de las paredes celulares insolubles y se concentran en evaporadores de película descendente u otro tipo de evaporador disponible. Para aplicaciones fermentativas el concentrado puede ser sometido a procesos de filtrado nuevamente. Una posterior concentración a vacío y una corta esterilización conducen a los productos típicos siguientes.

- extractos líquidos (con sólidos entre 50 y 65 %)
- pastas altamente viscosas (70 a 80 %)
- polvos secos obtenidos por atomización, en secadores de diseño especial.



AROMA/SABOR OBTENIDOS AL CALENTAR AMINOÁCIDOS PUROS Y GLUCOSA A 180 °C:

Aminoácido	Aroma/sabor	Aminoácido	Aroma/sabor
Glicina	Caramelo	Metionina	Patatas asadas
Alanina	Caramelo	Fenilalanina	Violetas
Valina	Chocolate	Tirosina	Caramelo
Leucina	Queso horneado	Asparagina	Caramelo
Isoleucina	Queso horneado	Acido glutámico	Café
Prolina	Tortas y pasteles	Histidina	Pan de maíz
Hidroxiprolina	Galletas	Lisina	Pan fresco
Arginina	Azúcar quemada		

AMINOÁCIDOS. EFECTOS Y APLICACIONES

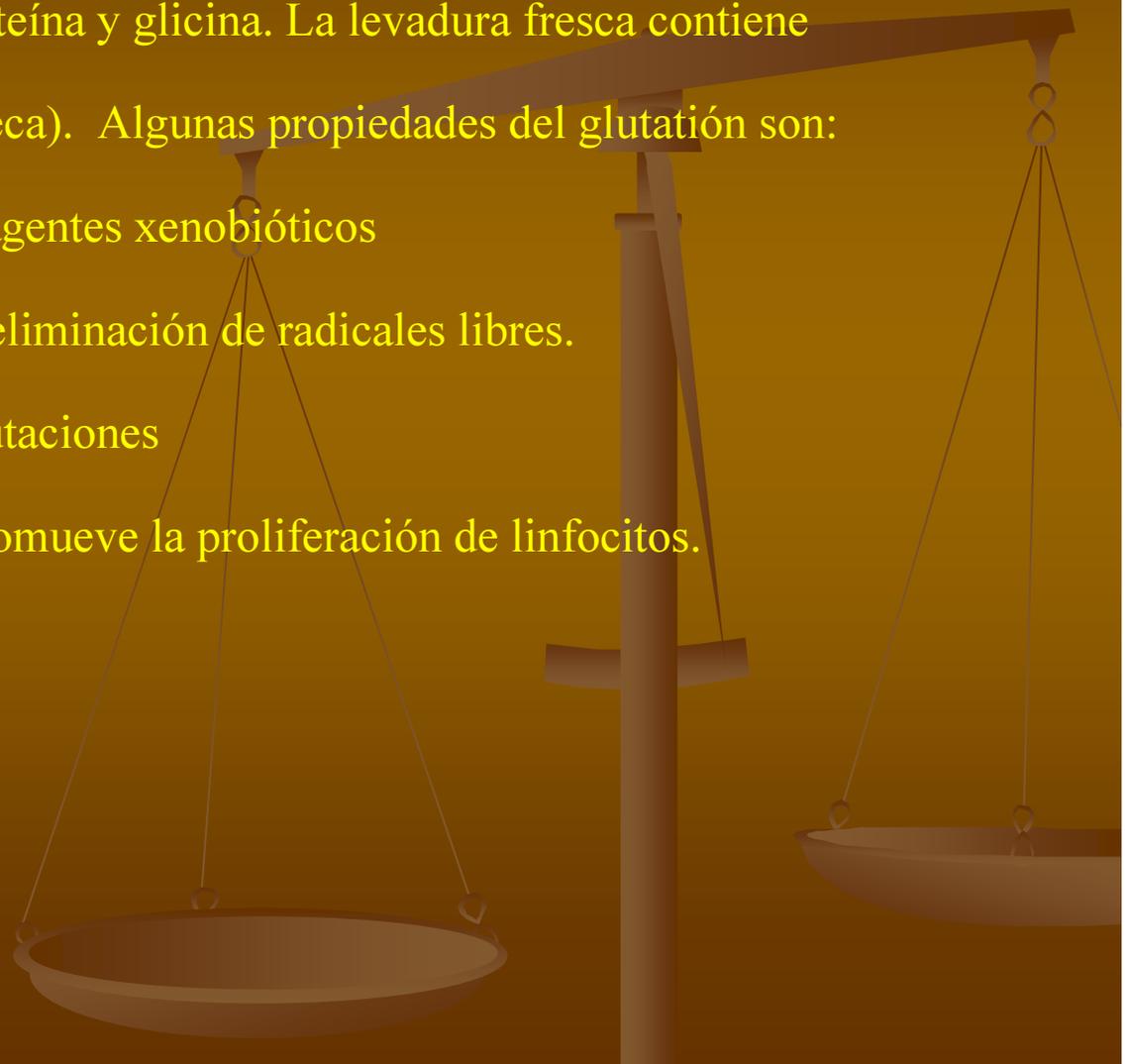
Aminoácido	Efecto y aplicación
Alanina y ácido asparagínico	Enmascaramiento de sabores ácidos (jugos de frutas etc)
Triptófano y metionina	Propiedades antioxidantes (grasas)
Triptófano e histidina	Propiedades antioxidantes (leche en polvo)
Histidina	Antioxidante (salsas congeladas). Inhibición de la rancidez (bizcochos) en combinación con glucosa
Cisteína	Antioxidante (mejoramiento de la calidad del pan)
Metionina	Aumento de la calidad nutricional (alimento animal)
Lisina	Suplemento a proteínas de cereal (en combinación con treonina y triptófano)
Glicina	Enmascaramiento de sabores pungentes causados por endulzantes artificiales. Bacteriostático

OTRAS APLICACIONES DE LA LEVADURA Y SUS DERIVADOS

Obtención de Glutación

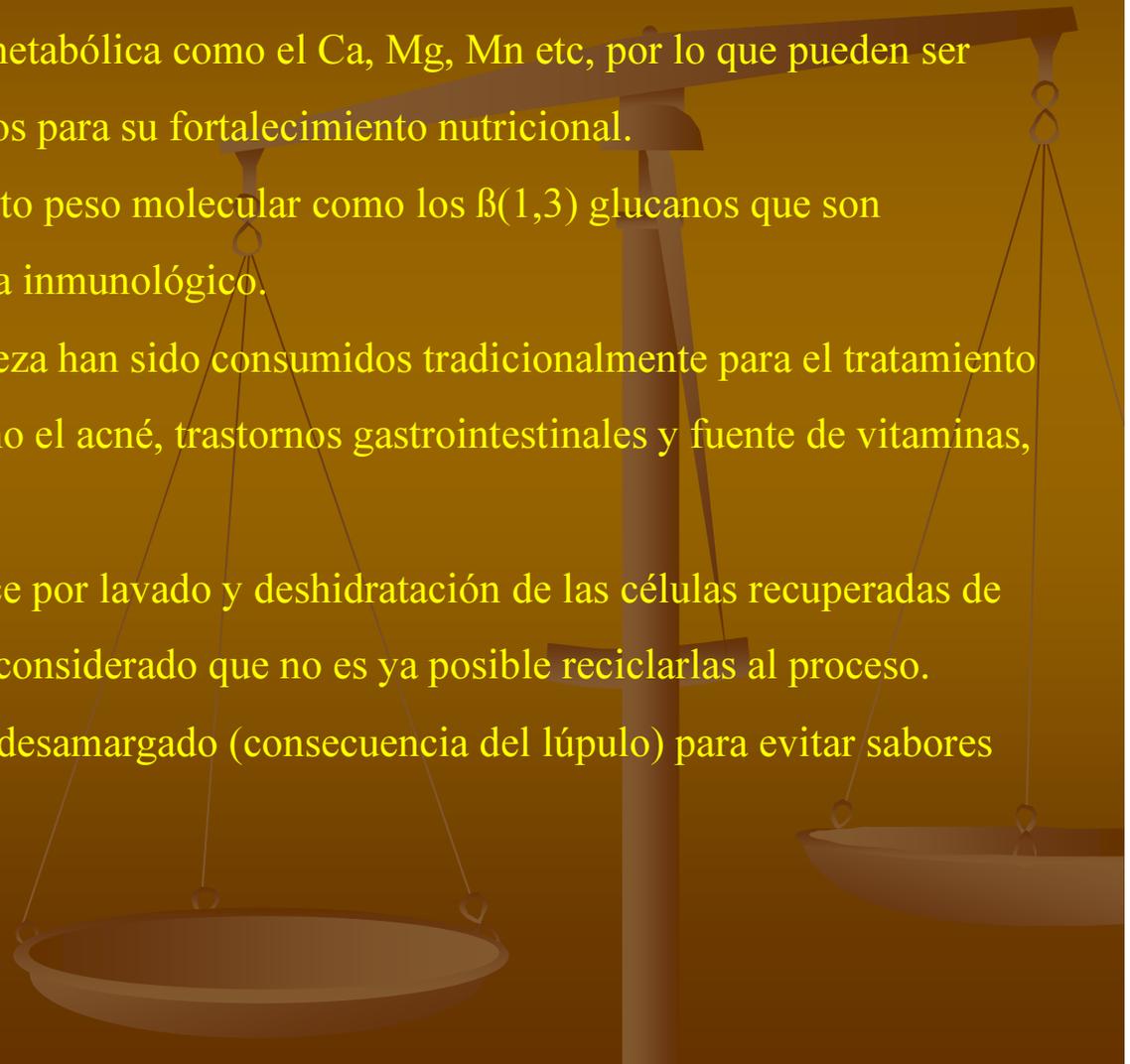
Es un tripéptido de glutamato, cisteína y glicina. La levadura fresca contiene aproximadamente 0.65 % (base seca). Algunas propiedades del glutación son:

- Promueve la destoxificación de agentes xenobióticos
- Juega un papel importante en la eliminación de radicales libres.
- Anticarcinogénico. Inhibe las mutaciones
- Potencia la respuesta inmune. Promueve la proliferación de linfocitos.



Enriquecimiento nutricional

- Elevado contenido de proteínas de una excelente calidad que contiene cantidades importantes de todos los aminoácidos excepto los sulfurados metionina y cisteína.
- Fuente principal de vitaminas del complejo B en la naturaleza (levadura de cerveza)
- Contienen minerales de importancia metabólica como el Ca, Mg, Mn etc, por lo que pueden ser incorporadas a los sistemas de alimentos para su fortalecimiento nutricional.
- Contienen también polisacáridos de alto peso molecular como los $\beta(1,3)$ glucanos que son comprobados potenciadores del sistema inmunológico.
- Los comprimidos de levadura de cerveza han sido consumidos tradicionalmente para el tratamiento de algunas enfermedades cutáneas como el acné, trastornos gastrointestinales y fuente de vitaminas, carbohidratos complejos etc.
- La levadura de cerveza seca se produce por lavado y deshidratación de las células recuperadas de la etapa de fermentación cuando se ha considerado que no es ya posible reciclarlas al proceso. Puede resultar necesario el proceso de desamargado (consecuencia del lúpulo) para evitar sabores indeseables

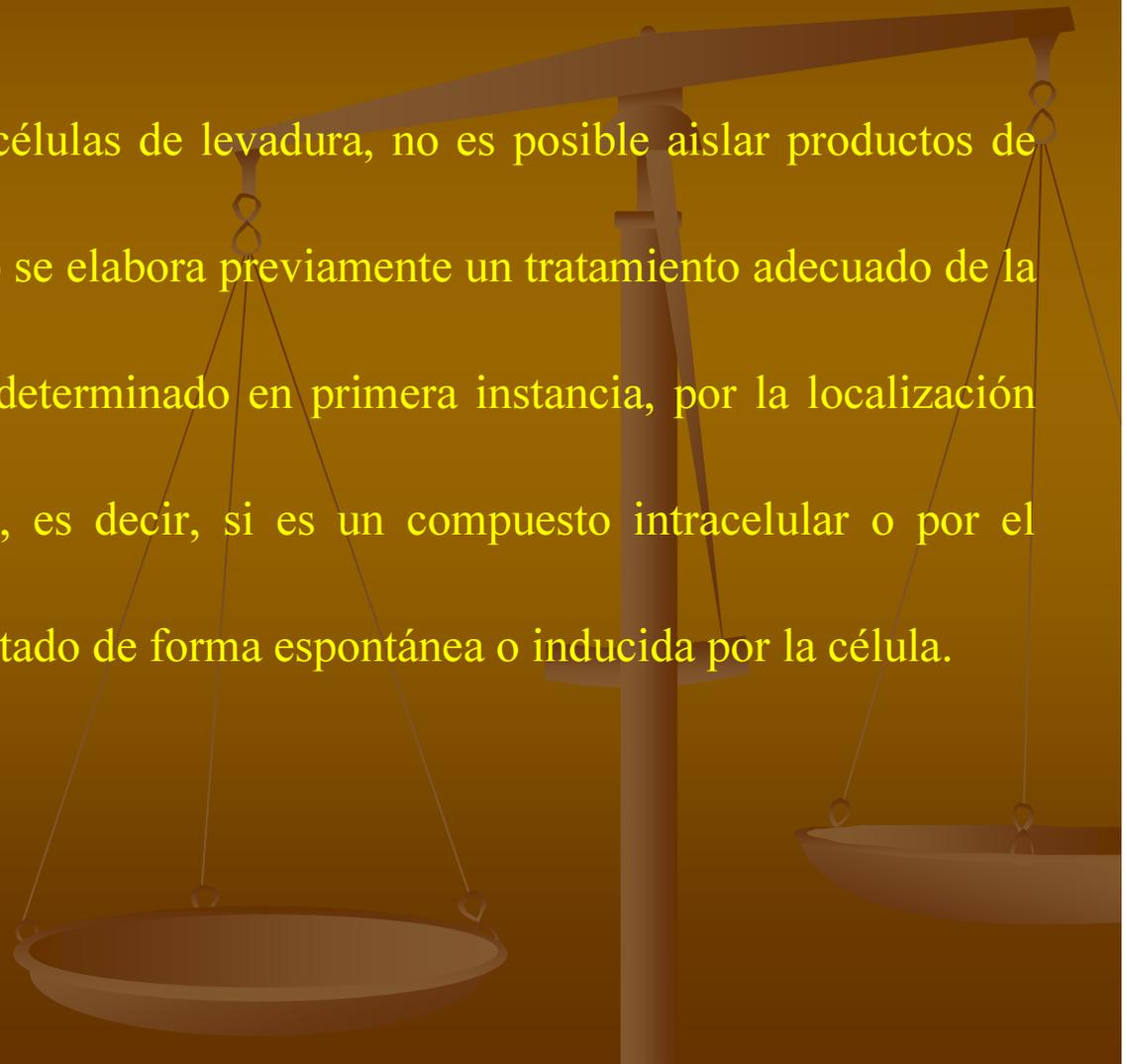


Composición en aminoácidos de la levadura de cerveza desamargada

Aminoácido	%	Aminoácido	%
Alanina	6.0	Arginina	4.3
Aspartato	8.4	Cisteína	0.2
Glutamato	11.3	Glicina	4.1
Histidina	2.2	Isoleucina	3.9
Leucina	6.3	Lisina	6.5
Metionina	1.2	Fenilalanina	3.9
Prolina	3.9	Serina	4.3
Treonina	4.1	Triptófano	1.4
Tirosina	2.4	Valina	5.1

Aislamiento de productos

A partir de una suspensión de células de levadura, no es posible aislar productos de interés de forma individual, sino se elabora previamente un tratamiento adecuado de la biomasa. El tratamiento estará determinado en primera instancia, por la localización celular del producto de interés, es decir, si es un compuesto intracelular o por el contrario es un compuesto excretado de forma espontánea o inducida por la célula.



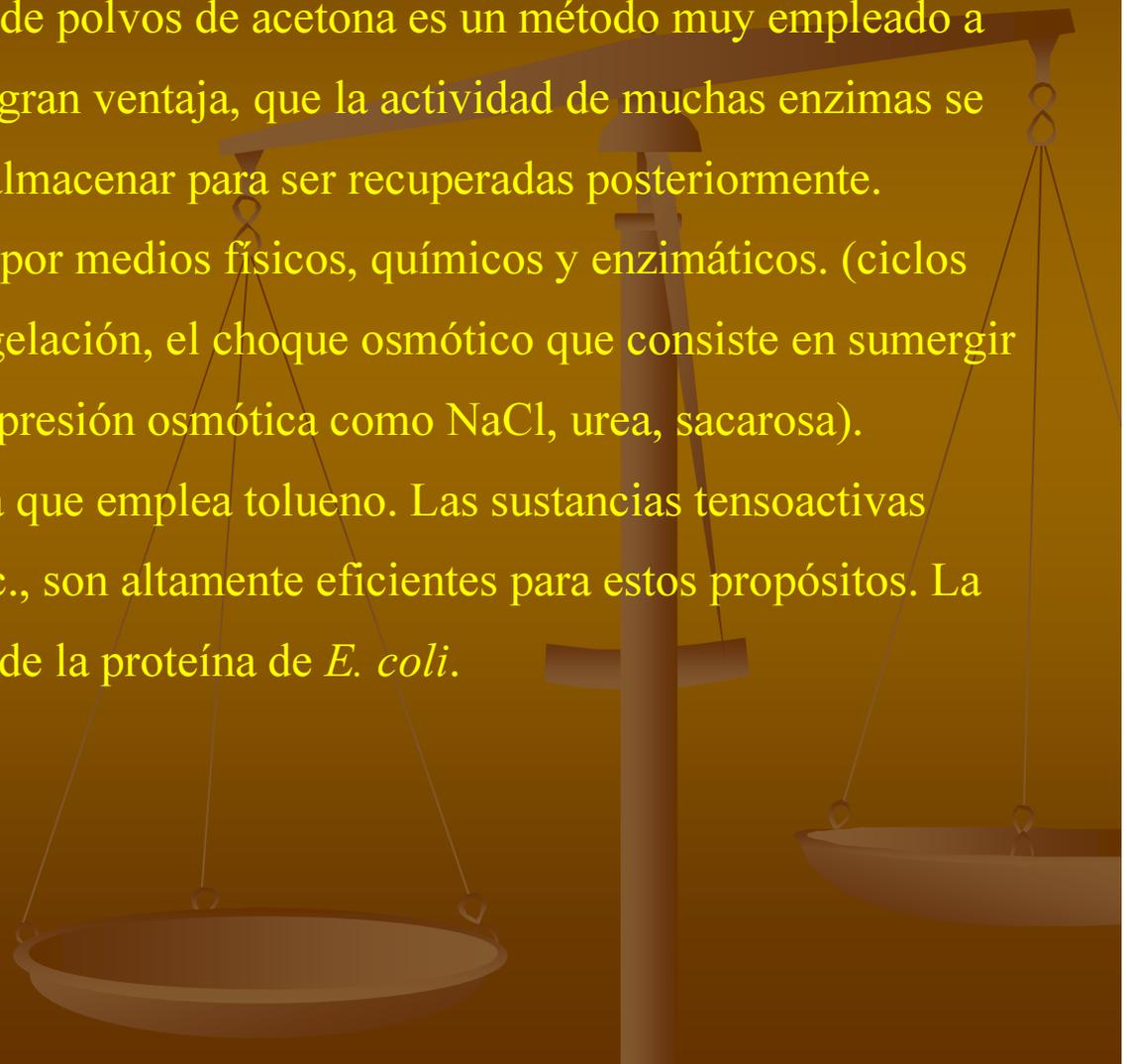
DESINTEGRACIÓN CELULAR

El método más simple y antiguo es el secado a temperatura ambiente por 2-3 días.

Métodos más elaborados parten del empleo de secadores tipo tambor, atomización, lecho fluidizado etc. La obtención de polvos de acetona es un método muy empleado a nivel de laboratorio y posee como gran ventaja, que la actividad de muchas enzimas se conserva casi intacta y se pueden almacenar para ser recuperadas posteriormente.

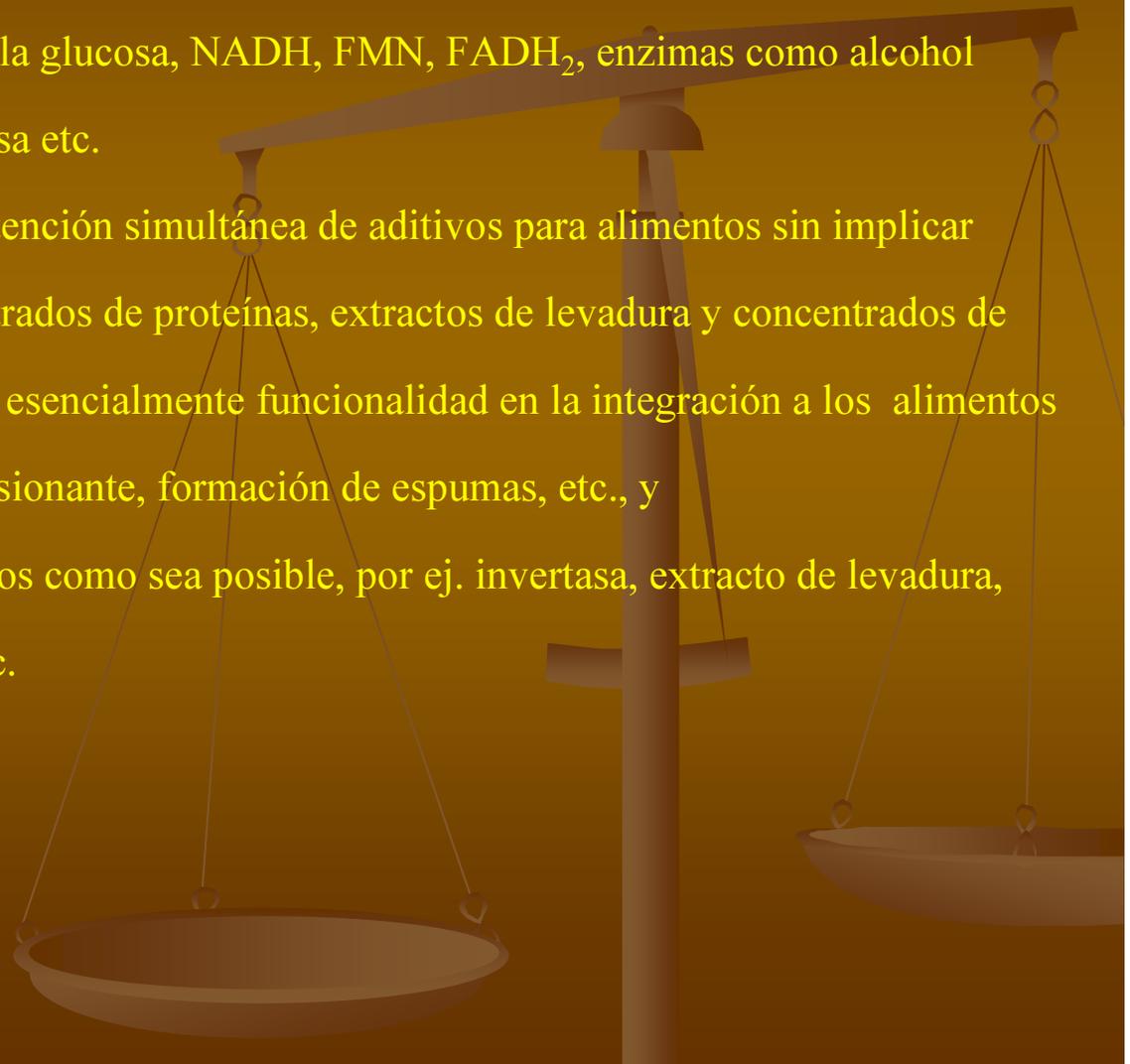
La lisis celular puede ser inducida por medios físicos, químicos y enzimáticos. (ciclos alternados de congelación-descongelación, el choque osmótico que consiste en sumergir las células en una solución de alta presión osmótica como NaCl, urea, sacarosa).

La lisis química más utilizada es la que emplea tolueno. Las sustancias tensoactivas como los detergentes, la glicina etc., son altamente eficientes para estos propósitos. La glicina por ejemplo, libera el 80% de la proteína de *E. coli*.



Fraccionamiento de levaduras

- Se han propuesto esquemas de fraccionamiento de levaduras a partir de autolizados frescos, sin embargo, la práctica común en la industria desarrolla procesos de obtención de los diferentes compuestos de forma aislada : glutatión, factor de tolerancia a la glucosa, NADH, FMN, FADH₂, enzimas como alcohol deshidrogenasa (ADH), glucosa isomerasa etc.
- Otras tendencias se encaminan en la obtención simultánea de aditivos para alimentos sin implicar elevados grados de pureza como concentrados de proteínas, extractos de levadura y concentrados de polisacáridos de pared celular, buscando esencialmente funcionalidad en la integración a los alimentos como: retención de agua, actividad emulsionante, formación de espumas, etc., y
- Obtención simultánea de tantos productos como sea posible, por ej. invertasa, extracto de levadura, ergosterol, polisacáridos, fosfolípidos etc.



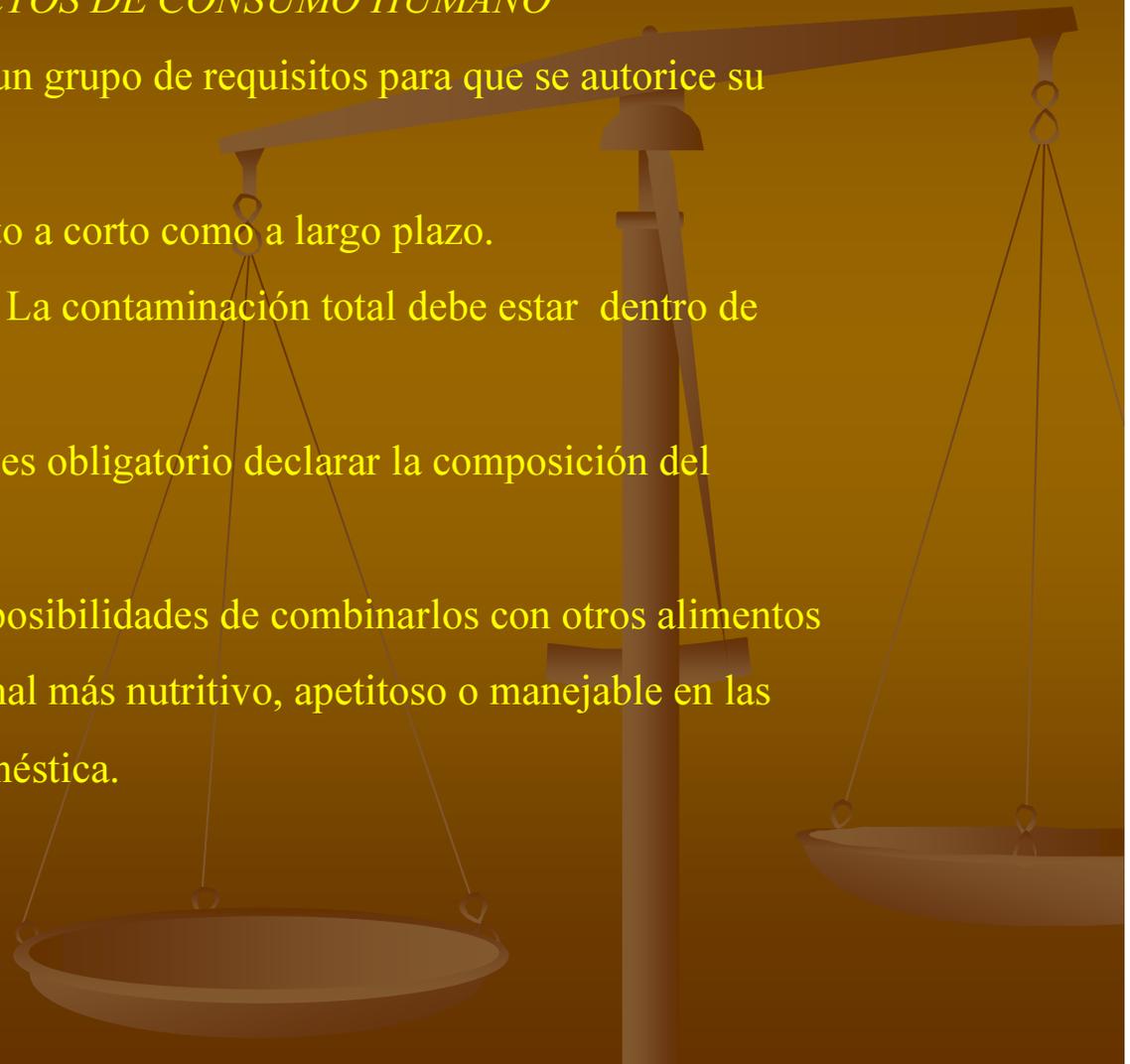
ESTUDIO DE CASO

Producción de derivados funcionales

REQUERIMIENTOS PARA PRODUCTOS DE CONSUMO HUMANO

Todo alimento tiene que cumplir con un grupo de requisitos para que se autorice su producción en forma industrial.

- Inocuidad para la salud humana, tanto a corto como a largo plazo.
- Ausencia de organismos patógenos. La contaminación total debe estar dentro de ciertos límites permisibles.
- Valor nutricional -en muchos países es obligatorio declarar la composición del producto en la etiqueta.
- Funcionalidad de los ingredientes - posibilidades de combinarlos con otros alimentos o ingredientes para lograr producto final más nutritivo, apetitoso o manejable en las condiciones de mercado y de vida doméstica.

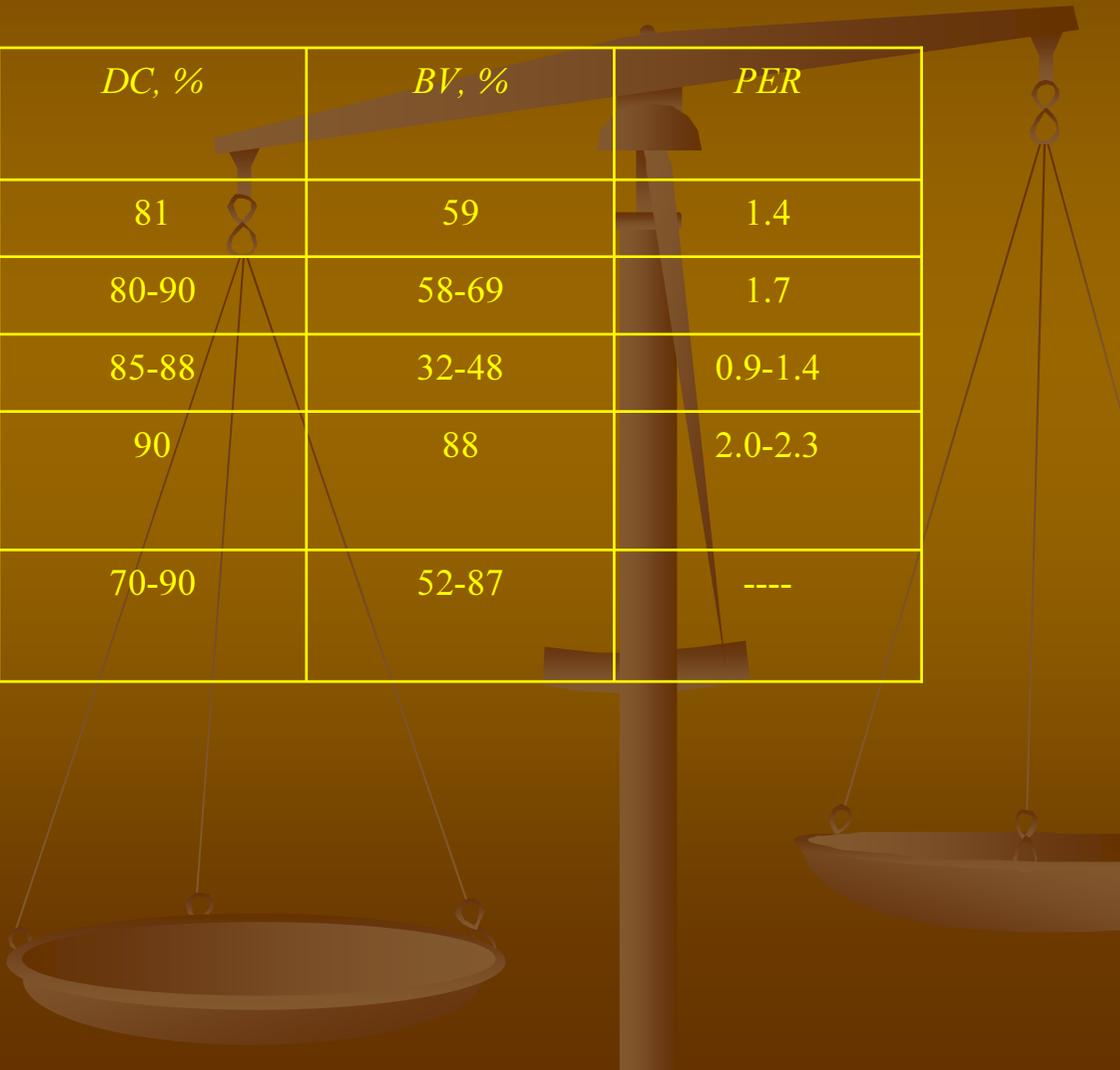


Niveles permisibles de contaminación microbiana en alimentos

<i>Microorganismo*</i>	<i>Cantidad/g</i>
<i>Bacterias viables</i>	10^5
<i>Levaduras y mohos totales</i>	100
<i>Enterobacteriaceae</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Clostridium totales</i>	1000
<i>Clostridium perfringens</i>	100
<i>Streptococcus Grupo D Lancefield</i>	10^5

* Hernández, F (1984) *Acta Microbiologica Hungarica* 31 159.

Valor nutricional

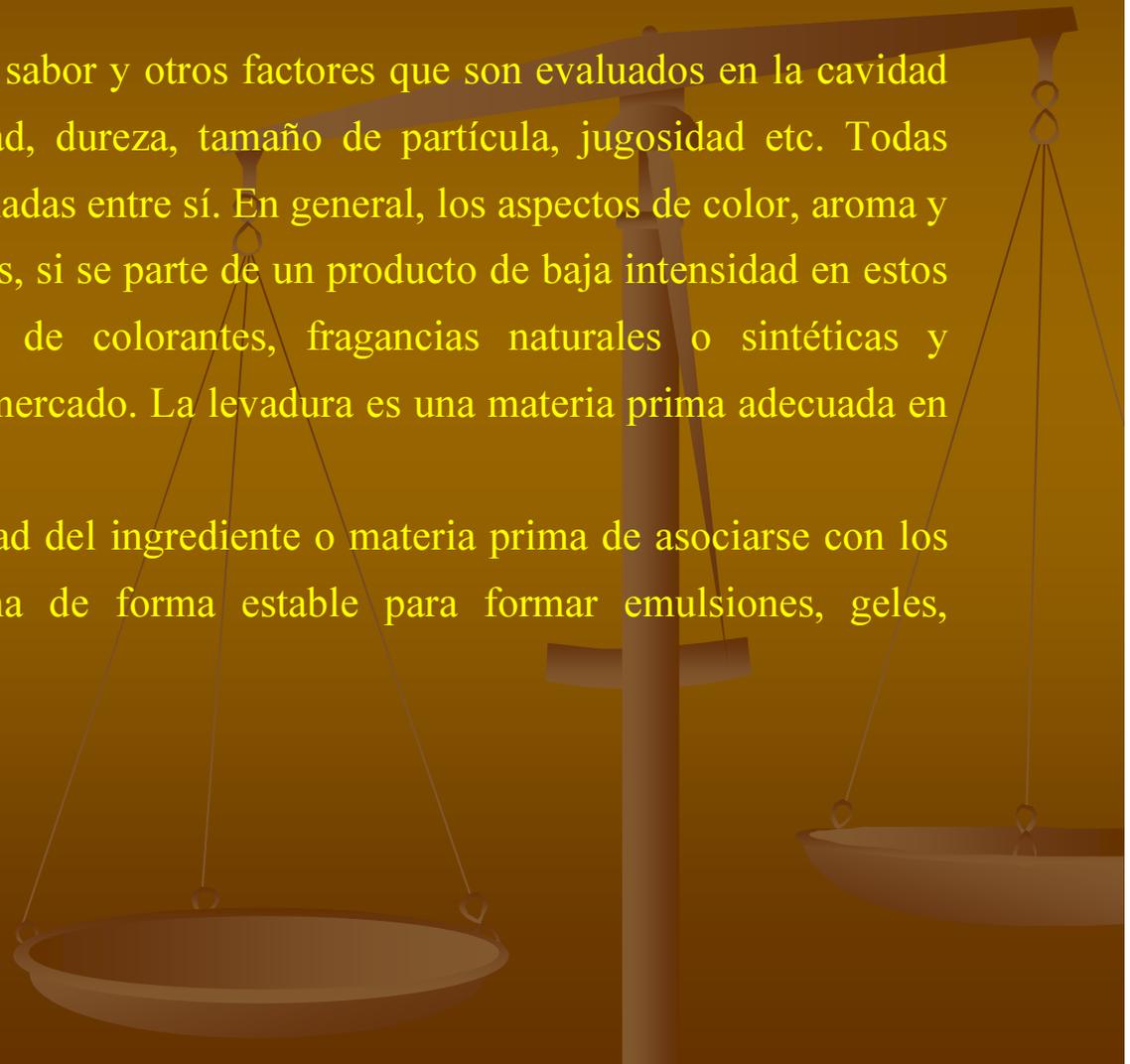


<i>Levadura</i>	<i>Sistema</i>	<i>DC, %</i>	<i>BV, %</i>	<i>PER</i>
<i>Panadera</i>	rata	81	59	1.4
<i>Destilería</i>	rata	80-90	58-69	1.7
<i>Forrajera</i>	rata	85-88	32-48	0.9-1.4
<i>Forrajera + 0.5% met</i>	rata	90	88	2.0-2.3
<i>Alimento seco</i>	hombre	70-90	52-87	----

PROPIEDADES FUNCIONALES

• Organolépticas: color, aroma, sabor y otros factores que son evaluados en la cavidad bucal como textura, cremosidad, dureza, tamaño de partícula, jugosidad etc. Todas estas propiedades están relacionadas entre sí. En general, los aspectos de color, aroma y sabor son fácilmente asimilables, si se parte de un producto de baja intensidad en estos indicadores, mediante el uso de colorantes, fragancias naturales o sintéticas y saborizantes disponibles en el mercado. La levadura es una materia prima adecuada en este sentido.

Funcionales como tal: capacidad del ingrediente o materia prima de asociarse con los otros componentes del sistema de forma estable para formar emulsiones, geles, espumas etc.



CONCEPCIÓN MODULAR

Módulo A

- Levadura seca en hojuelas 
- Levadura en tabletas
- Salsa tipo soja 

Módulo B

- Extracto de levadura 
- Salsa tipo barbacoa 

Módulo C

- Concentrados de proteínas 
- Extracto de levadura (base nucleotídica principalmente)
- Fibra dietética (polisacáridos complejos insolubles) 



Levadura en hojuelas o tabletas

Análisis medio	100 g de producto
<i>Humedad</i>	5-8 %
<i>Color</i>	Crema claro
<i>Densidad volumétrica</i>	200-250 g/dm ³
<i>Valor energético</i>	320-355 Kcal
<i>Proteínas</i>	50-52 g
<i>Hidratos de carbono totales</i>	12-14 g
<i>Lípidos totales</i>	1-1.5 g
<i>Lípidos saturados</i>	0.2-0.3 g
<i>Lípidos insaturados</i>	0.8-1.2 g
<i>Minerales</i>	6-7 g
<i>Calcio</i>	150-170 mg
<i>Fósforo</i>	1200-1300 mg
<i>Magnesio</i>	150-160 mg
<i>Vitaminas</i>	
<i>Tiamina (B 1)</i>	40 mg
<i>Riboflavina (B 2)</i>	5 mg
<i>Nicotinamida (B 3)</i>	30 mg
<i>Ácido pantoténico (B 5)</i>	10 mg
<i>Piridoxina (B 6)</i>	3 mg
<i>Ácido fólico</i>	2 mg

Salsa tipo soja

Componente	%
<i>Sólidos totales</i>	23-25
<i>Sal común (NaCl)</i>	12-14
<i>Azúcares reductores</i>	5-6
<i>Proteína hidrolizada</i>	7-8
<i>Nitrógeno amínico</i>	0.5-0.8
<i>pH</i>	4.3-4.5
<i>Color</i>	Típico
<i>Olor</i>	Característico
<i>Sabor</i>	Salsa soja

Extracto de levadura

Dentro de los productos a ser producidos en la instalación, el extracto de levadura es el que posee el mercado más tradicional, utilizándose como saborizante. Se emplea también en la industria de cosméticos como nutriente y la industria fermentativa como componente del medio de cultivo.

Composición	%
Sólidos totales	> 70
Nitrógeno orgánico (Kjeldahl)	> 4.8
Nitrógeno amínico	2.8-3.0
Fosfatos	> 9.0
pH	6.0



Salsa barbacoa

Es un producto elaborado a partir del extracto que permite una mayor flexibilidad para su introducción en el mercado.



<i>Composición</i>	<i>%</i>
<i>Sólidos totales</i>	40-45
<i>Extracto de levadura</i>	26.9
<i>Aditivos naturales</i>	27.3
<i>Color</i>	Marrón
<i>Olor</i>	Característico
<i>Sabor</i>	Cárnico robusto, asado

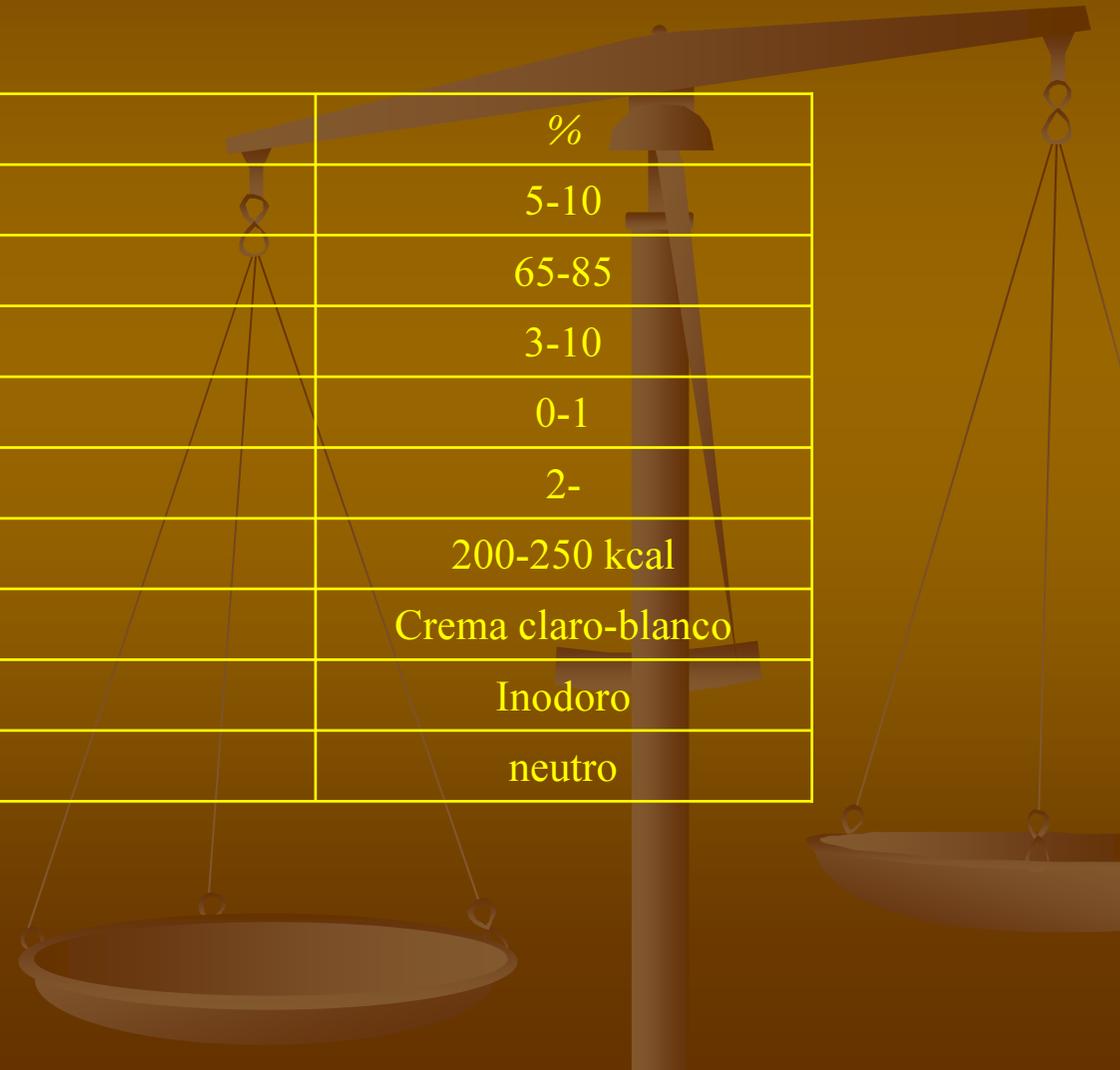
Concentrados de proteínas

<i>COMPOSICIÓN</i>	<i>%</i>
<i>Sólidos totales</i>	92-95
<i>Proteínas</i>	70-85
<i>Lípidos</i>	0-1
<i>Cenizas</i>	2-4
<i>Hidratos de carbono</i>	6-8
<i>pH (solución 1%)</i>	6-6.5
<i>Consistencia</i>	Polvo fino
<i>Color</i>	Crema muy claro
<i>Olor</i>	Inodoro
<i>Sabor</i>	Neutro
Propiedades funcionales	
<i>Retención de agua</i>	350-400
<i>Enlace de aceite</i>	700-900
<i>Capacidad emulsionante</i>	140-150 g de aceite/g proteína



Fibra dietética

(concentrado de polisacáridos de pared celular)



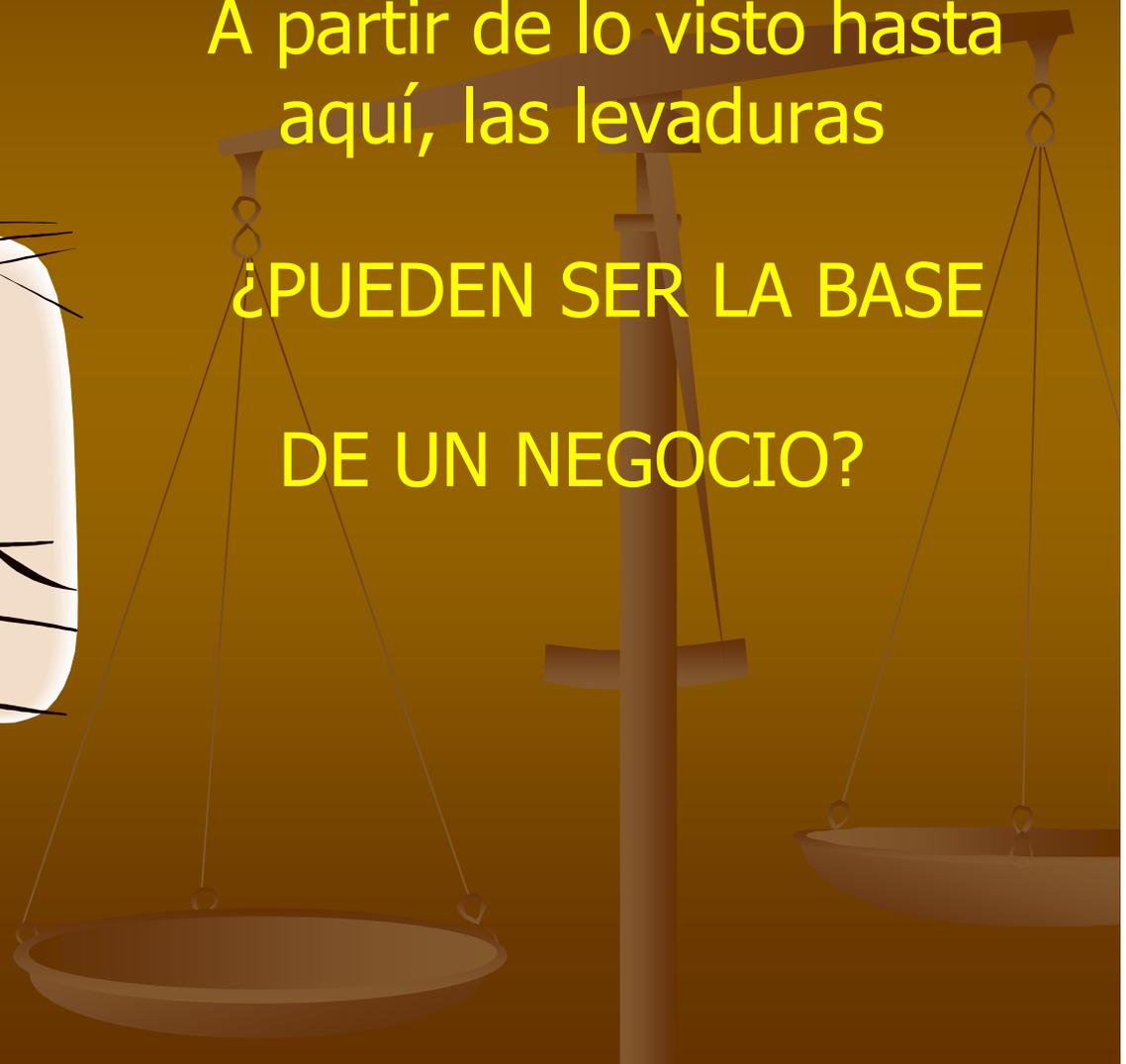
<i>Composición</i>	<i>%</i>
<i>Humedad</i>	5-10
<i>Hidratos de carbono</i>	65-85
<i>Proteínas</i>	3-10
<i>Lípidos</i>	0-1
<i>Cenizas</i>	2-
<i>Valor energético</i>	200-250 kcal
<i>Color</i>	Crema claro-blanco
<i>Olor</i>	Inodoro
<i>Sabor</i>	neutro



A partir de lo visto hasta
aquí, las levaduras

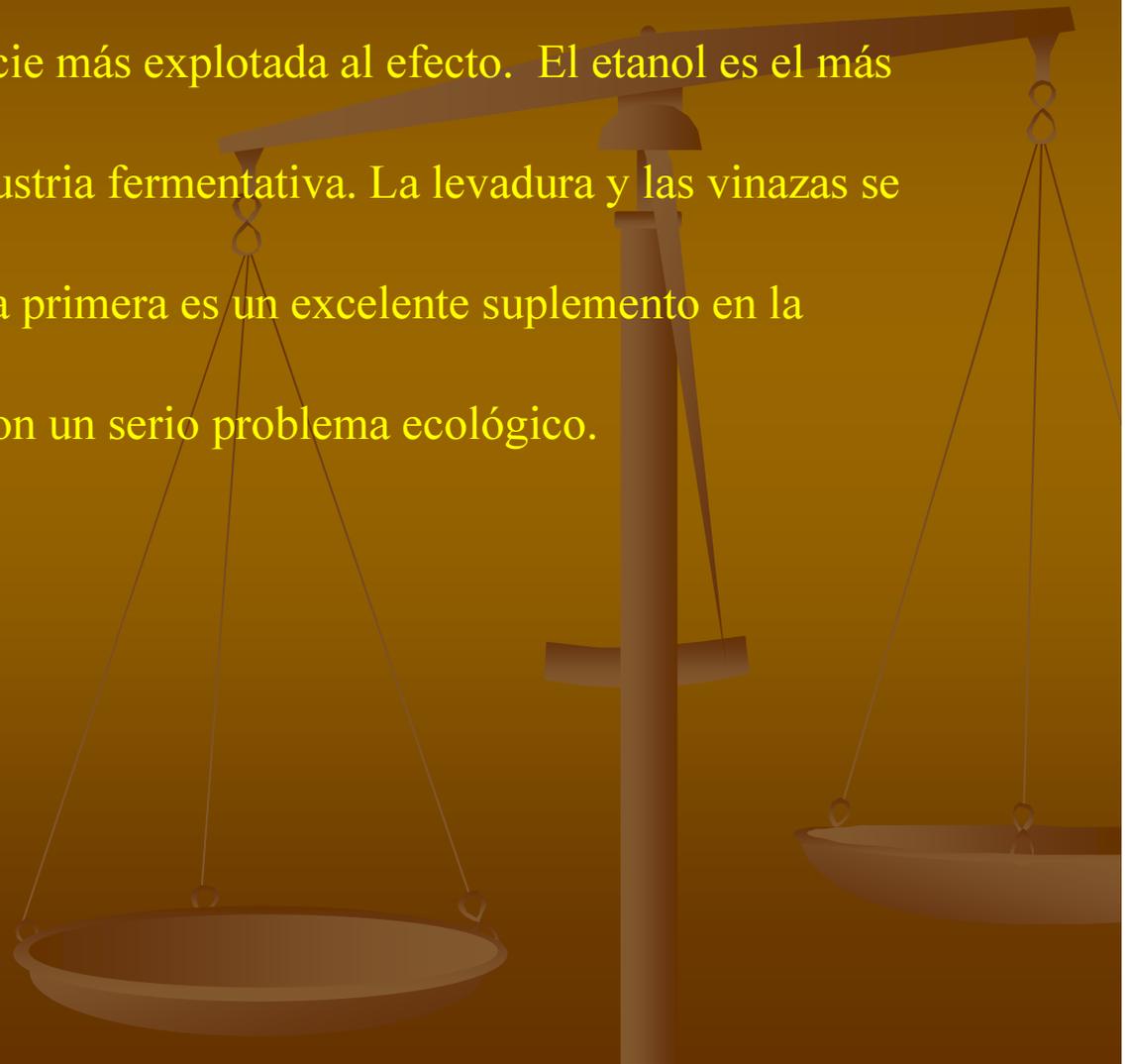
¿PUEDEN SER LA BASE

DE UN NEGOCIO?



Alcohol (potable y carburante)

Saccharomyces cerevisiae es la especie más explotada al efecto. El etanol es el más importante producto básico de la industria fermentativa. La levadura y las vinazas se colectan después de la destilación. La primera es un excelente suplemento en la alimentación animal. Las segundas son un serio problema ecológico.



Producción de enzimas

Se producen cantidades de enzimas importantes a partir de la levadura e.g. alcohol deshidrogenasa, hexokinasa, lactato deshidrogenasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, etc.

Invertasa

Degrada la sacarosa en glucosa y fructosa. Se usa en la industria de repostería para producir chocolates blandos.

Lactasa

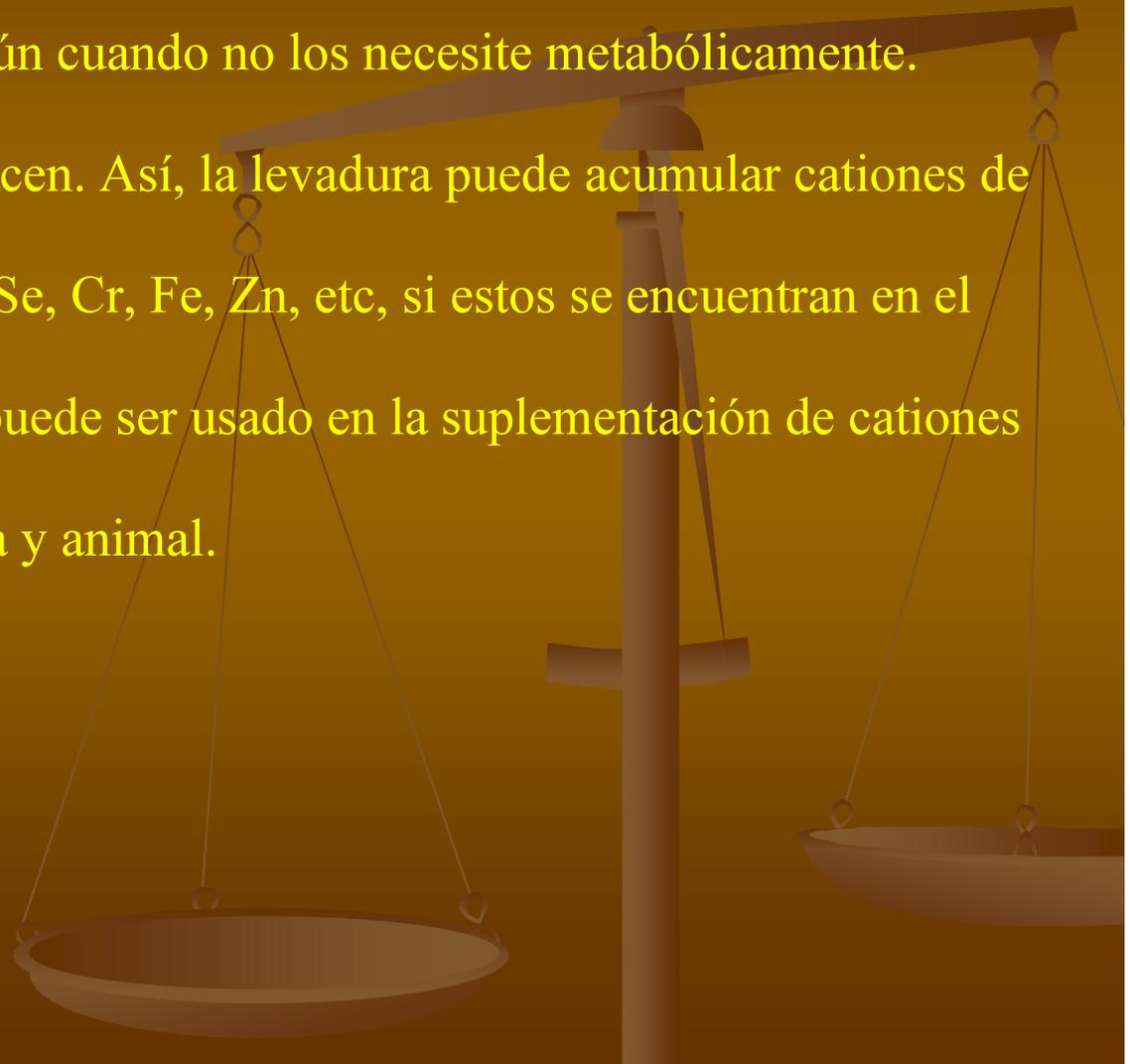
La enzima β -galactosidasa (lactasa) se usa ampliamente en la industria láctea. Se aísla de la levadura *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, o *K. fragilis*.



Levaduras especiales

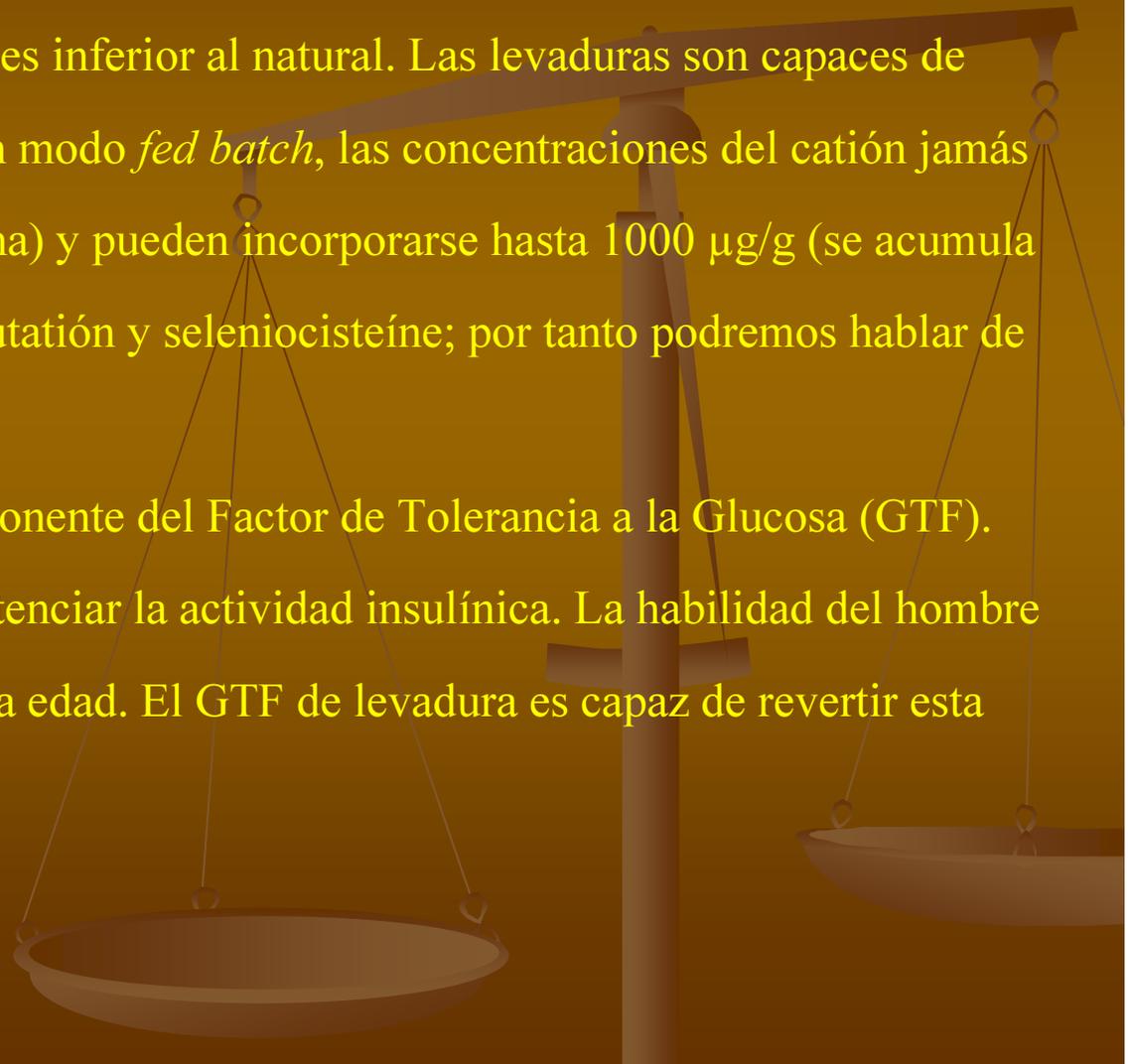
La biomasa de levadura acumula cantidades variables de minerales presentes en su medio de crecimiento, aún cuando no los necesite metabólicamente.

Algunas plantas también lo hacen. Así, la levadura puede acumular cationes de importancia fisiológica como Se, Cr, Fe, Zn, etc, si estos se encuentran en el medio de propagación. Esto puede ser usado en la suplementación de cationes deficitarios en la dieta humana y animal.



Selenio. Es muy deficiente en numerosos países como China, Nueva Zelandia y Finlandia. , El contenido de Se en las cosechas y los piensos producidos en la mayor parte del mundo están por debajo de los niveles óptimos. Históricamente se ha suministrado como selenito de sodio. La absorción del selenio inorgánico es inferior al natural. Las levaduras son capaces de asimilar Se y si este se administra en modo *fed batch*, las concentraciones del catión jamás son tóxicas (para la célula microbiana) y pueden incorporarse hasta 1000 µg/g (se acumula como seleniometionina, seleniodiglutatión y seleniocisteína; por tanto podremos hablar de selenioproteínas).

Cromo. El Cr trivalente es un componente del Factor de Tolerancia a la Glucosa (GTF). Puede actuar como cofactor para potenciar la actividad insulínica. La habilidad del hombre para sintetizar GTF disminuye con la edad. El GTF de levadura es capaz de revertir esta deficiencia.



Volvamos a la pregunta inicial

¿Puede basarse una industria en este microorganismo?

Parece ser que la respuesta es definitivamente SI.

¿Estamos en condiciones de desarrollarla por medios propios?, también parece positiva la respuesta, pero:

¿Qué necesitamos para ello?

- Una puerta abierta hacia la agricultura y la visión de salir hacia ella
- Un equipo de investigación poderoso (en fisiología de levaduras, cinética de bioprosesos y biología molecular), así como una interfase en fisiología y nutrición animal.
- Un equipo de comercialización internacional, y por supuesto
- financiamiento

