

Suplementación de cereales con levadura *Candida utilis* **o hidrolizado enzimático de pescado.**

ENRIQUE YÁÑEZ, DIGNA BALLESTER y VIVIEN GATTAS
Departamento de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile,
Sede Santiago Sur. Casilla 15138, Santiago 11, Chile

RESUMEN

Se estudió en la rata la capacidad de suplementación de dos concentrados proteicos, hidrolizado enzimático de pescado, (*Merluccius gayi*) (63.6% de proteína) y *Candida utilis* (53.8% de proteína) sobre harina de trigo, arroz y maíz al 2, 4, 6, 8 y 10% en peso. Se midió el crecimiento y la Eficiencia Proteica en un período de 4 semanas.

En los tres cereales se observó un incremento progresivo en la velocidad de crecimiento, paralelo al aumento de los niveles de suplementación, el que fue mayor en el caso del hidrolizado de pescado. Este concentrado proteico produjo además una mejoría de la Eficiencia Proteica de los cereales en ensayo, observándose el valor máximo al 10% para trigo (PER 2.49), al 6% para el arroz (PER 3.61) y al 8% en el caso del maíz (PER 2.73).

La levadura *Candida utilis* determinó también una mayor eficiencia proteica, alcanzando los valores máximos al 10% en el trigo, al 4% para arroz y al 8% en el maíz (PER 2.10, 2.80 y 2.18 respectivamente).

Se demostró que el incremento de la calidad de la proteína se debe al aporte de aminoácidos esenciales destacándose el de lisina ya que este aminoácido es el primer limitante en los tres cereales estudiados.

INTRODUCCION

En la mayoría de los países en vías de desarrollo casi 2/3 de la energía dietaria proviene de los cereales. Los vegetales, en general, proporcionan alrededor del 75% de la ingesta proteica (1). En las clases sociales chilenas de menores in-

gresos del 36-53% de las calorías y del 29-38% de la proteína proviene de cereales y derivados (2).

En general los cereales suministran cantidades adecuadas de proteína dietaria, incluso para el crecimiento de niños pequeños, pero su utilización es reducida por la pobre calidad de su proteína debido al escaso aporte de algunos aminoácidos esenciales como lisina, treonina y triptofano (3) y (4).

Es lógico suponer que aquellas poblaciones que presentan una alta ingesta de cereales en desmedro del consumo de proteína animal, no pueden satisfacer adecuadamente sus requerimientos proteicos y aminoacídicos como para permitir un crecimiento y desarrollo normales en el individuo joven y la manutención de un buen estado de salud en el adulto.

La calidad biológica de la proteína de los cereales puede mejorarse a través de la selección genética adecuada o por fortificación con aminoácidos (5) o con concentrados proteicos (6), tales como harina de pescado, soya y proteínas unicelulares (7-10). Este último procedimiento tiene la ventaja de que al mismo tiempo que se corrigen las deficiencias aminoacídicas, se eleva el contenido de proteína y otros nutrientes de por sí bajos en los cereales y sus derivados.

En el presente trabajo se comunican los resultados de la adición de niveles crecientes de levadura *Candida utilis* y de un hidrolizado enzimático de merluza, sobre el valor nutritivo de trigo, maíz y arroz.

MATERIALES Y METODOS

CEREALES

La harina de trigo usada en estos experimentos fue adquirida en el comercio local y corresponde a 80% de extracción. El arroz pulido y el maíz se adquirieron en el comercio local y se sometieron a molienda fina en un molinillo ad-hoc.

CONCENTRADOS PROTEICOS

Los concentrados proteicos usados en los ensayos de suplementación fueron la levadura *Candida utilis* donada por la Industria Azucarera Nacional S. A. (IANSA) quien la obtuvo experimentalmente por cultivo en melazas de remolacha (10),

y un concentrado proteico de pescado obtenido por hidrólisis enzimática de filete de merluza (*Merluccius gayi*), según Rutman *et al* (11).

La composición química de ambos concentrados junto con el contenido de lisina, metionina, triptofano y treonina de los cereales y concentrados proteicos estudiados aparece en el Cuadro No. 1.

Los valores de lisina, metionina y treonina de ambos suplementos proteicos fueron obtenidos hidrolizando la proteína con HCl 6 N y posterior cromatografía en un analizador automático de aminoácidos de acuerdo a técnicas ya citadas (10).

En todas las pruebas biológicas se utilizó una dieta basal que contenía, en gramos por ciento: cereal 80, aceite de maíz 10, celulosa no nutritiva* 5, mezcla mineral USP XIV 4 y vitaminas 1 (12). Los concentrados proteicos se incorporaron en la dieta a expensas del cereal en porcentajes de 2, 4, 6, 8 y 10%. Las dietas por lo tanto no fueron isoproteicas. Se usó una dieta control a base de caseína de alto contenido proteico (General Biochemicals, Chagrin Falls, Ohio, U. S. A.) preparada de tal modo que diera un 10% de proteína (12). La calidad biológica de la proteína se determinó en todos los casos como Razón de Eficiencia Proteica (PER) utilizando para cada dieta 10 ratas blancas de la raza Wistar alojadas individualmente (12). El peso promedio de los animales de cada grupo fue esencialmente el mismo. El experimento demoró 28 días ofreciéndose el agua y la dieta *ad-libitum*. La ganancia ponderal e ingesta dietaria de los animales se determinaron semanalmente. El contenido de nitrógeno de las dietas, determinado por Kjeldahl permitió calcular la Razón de Eficiencia Proteica.

RESULTADOS

Como era de esperar, la suplementación de los tres cereales con los concentrados proteicos en las proporciones señaladas produjo un incremento en la concentración proteica de las dietas que varió entre 40 y 93% aproximadamente.

Los resultados de la suplementación de harina de trigo se muestran en el Cuadro No. 2.

* Alphacel obtenida de Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio, U. S. A.

CUADRO N° 1
CONTENIDO DE PROTEINA Y DE ALGUNOS AMINOACIDOS ESENCIALES
DE LOS CERALES Y CONCENTRADOS PROTEICOS ESTUDIADOS

	Proteína	Lisina	Metionina	Triptofano	Treonina
	%	g/ 16 g N			
Harina de trigo	12.5	2.08*	1.20*	1.12*	2.62*
Maíz	8.0	2.88*	1.86*	0.61*	3.98*
Arroz	7.5	3.76*	1.71*	1.02*	3.72*
Levadura <i>Candida utilis</i>	53.8	8.9	1.4	1.38*	4.5
Hidrolizado enzimático de pescado	63.6	11.8	3.4	1.00*	3.7

* Orr, M. L. & B. K. Watt. Amino Acid Content of Foods. Washington, D. C., U. S. Department of Agriculture, 1957. (Home Economics Research Report No° 4).

CUADRO N° 2
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE HARINA DE TRIGO CON HIDROLIZADO
ENZIMATICO DE PESCADO (H.E.P.) O LEVADURA CANDIDA UTILIS SOBRE
LA RAZON DE EFICIENCIA PROTEICA (PER) EN RATAS

H. E. P. %	C. utilis %	Proteína %	Crecimiento g	P E R
0	—	10.0	16.9 ± 4.8*	0.66 ± 0.13*
2	—	10.8	49.3 ± 2.6	1.69 ± 0.17
4	—	11.8	70.2 ± 14.1	2.19 ± 0.18
6	—	12.8	98.6 ± 20.8	2.38 ± 0.24
8	—	13.7	91.5 ± 12.8	2.29 ± 0.28
10	—	14.8	111.2 ± 21.4	2.49 ± 0.27
—	0	10.0	10.3 ± 6.3*	0.74 ± 0.29*
—	2	10.8	19.7 ± 8.9	0.99 ± 0.33
—	4	11.7	40.4 ± 11.3	1.59 ± 0.35
—	6	12.5	50.7 ± 13.2	1.75 ± 0.24
—	8	13.3	55.3 ± 12.1	1.71 ± 0.29
—	10	14.1	78.5 ± 15.5	2.10 ± 0.26
Caseína	—	10.2	75.2 ± 14.3	2.64 ± 0.19

* Media aritmética ± D.S.

CUADRO N° 3
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DEL MAIZ CON HIDROLIZADO ENZIMATICO
DE PESCADO (H.E.P.) O LEVADURA CANDIDA UTILIS SOBRE LA RAZON DE
EFICIENCIA PROTEICA (PER) EN RATAS

H. E. P. %	C. utilis %	Proteína %	Crecimiento g	P E R
0	—	6.4	10.5 ± 8.3*	0.94 ± 0.48*
2	—	7.4	24.7 ± 12.9	1.56 ± 0.74
4	—	8.5	49.0 ± 14.2	2.10 ± 0.43
6	—	9.6	68.6 ± 9.7	2.55 ± 0.15
8	—	10.5	87.5 ± 22.8	2.73 ± 0.43
10	—	11.5	95.5 ± 17.1	2.70 ± 0.26
—	0	6.4	10.1 ± 7.4*	1.22 ± 0.49*
—	2	7.3	10.2 ± 11.4	1.22 ± 0.66
—	4	8.0	28.0 ± 14.8	1.92 ± 0.58
—	6	9.1	35.4 ± 15.0	1.81 ± 0.49
—	8	10.1	51.7 ± 16.2	2.18 ± 0.39
—	10	11.0	52.8 ± 19.5	2.02 ± 0.39
Caseína	—	10.2	86.6 ± 16.3	2.93 ± 0.29

* Media aritmética ± D.S.

La dieta sin suplementar produjo un aumento de peso de 16.9 g y un PER de 0.66. La suplementación con hidrolizado enzimático de pescado produjo aumentos significativos en el crecimiento y en la Eficiencia Proteica. Los datos obtenidos indican que el 10% de suplementación con hidrolizado de pescado produjo la máxima ganancia de peso y la más alta eficiencia proteica. Los niveles de 6, 8 y 10% produjeron ganancias de peso significativamente superiores al registrado con caseína al 10%. Sin embargo, la eficiencia proteica fue inferior en todos los casos a la obtenida para la proteína control.

En la prueba de suplementación con levadura *Candida utilis* la dieta basal produjo un incremento de peso promedio de 10.3 g y un PER de 0.74.

La incorporación de la levadura *Candida utilis* produjo incrementos en la ganancia de peso y en la eficiencia de la utilización de la proteína, encontrándose que el 10% de suplementación produjo los mayores incrementos, aunque los valores obtenidos fueron inferiores en todos los niveles de suplementación a los logrados con la proteína de pescado. En este caso el crecimiento de las ratas alimentadas con harina de trigo enriquecida al 10% fue similar al de las ratas que recibieron la dieta control. Igual que en el enriquecimiento con hidrolizado de pescado, la eficiencia proteica del cereal enriquecido, en la máxima concentración, fue inferior a la de la caseína ya que mientras esta dió un PER de 2.64, la harina de trigo suplementada con 10% de levadura *Candida utilis* alcanzó sólo a 2.10.

Los resultados de la suplementación del maíz se presentan en el Cuadro No. 3. El maíz sin suplementar mostró un bajo valor biológico, reflejado en los parámetros de crecimiento y eficiencia proteica (PER 0.94 y 1.22). La suplementación de este cereal con hidrolizado enzimático de pescado produjo un aumento gradual en los valores de ambos índices. Al 8% de suplementación el PER alcanzó su valor máximo de 2.73, el que no experimentó mayor modificación al 10% de adición del concentrado proteico. A pesar de que el crecimiento máximo se logró en este nivel de suplementación, valor que fue superior al de la caseína al 10%, la eficiencia proteica de la proteína control fue superior a la del valor máximo del cereal adicionado de hidrolizado de pescado. El enriquecimiento del

maíz con 2% de levadura *Candida utilis* no produjo ningún efecto beneficioso ni sobre la ganancia de peso ni sobre la eficiencia proteica. A partir del 4% de suplementación se produjo un lento incremento en ambos parámetros, obteniéndose valores prácticamente iguales con 8 y 10% de enriquecimiento. Los datos de ganancia de peso y PER fueron inferiores en todos los niveles de suplementación a los obtenidos con hidrolizado de pescado.

Los resultados de la suplementación del arroz se presentan en el Cuadro No. 4. De los tres cereales estudiados, el arroz sin suplementar produjo los más altos índices de crecimiento y Eficiencia Proteica. La incorporación del concentrado proteico de pescado produjo un rápido incremento en los dos parámetros estudiados alcanzando valores significativamente superiores a los del control de caseína. En cuanto a la velocidad del crecimiento, el aumento fue mayor en los porcentajes más bajos hasta el 6%, observándose un aumento menor en los niveles superiores. La Eficiencia Proteica aumentó rápidamente alcanzando su máximo valor de 3.61 al 6% de suplementación, estabilizándose al 8% para descender ligeramente al 10%. Es interesante señalar que aún el arroz suplementado con 2% de concentrado proteico de pescado dió una Eficiencia Proteica superior a la de caseína. La adición de 2 y 4% de levadura *Candida utilis* produjo un rápido aumento en la ganancia de peso, para luego estabilizarse en valores ligeramente superiores a los de la proteína patrón pero significativamente inferiores a los obtenidos al suplementar con proteína de pescado. El PER aumentó rápidamente observándose que a niveles de 2, 4, 6 y 8% se obtuvieron valores prácticamente constantes e iguales a los de caseína, observándose una declinación al 10% con un valor de 2.33. En cuanto a Eficiencia Proteica la suplementación con levadura *Candida utilis* dió resultados inferiores a los obtenidos con hidrolizado de pescado.

DISCUSION

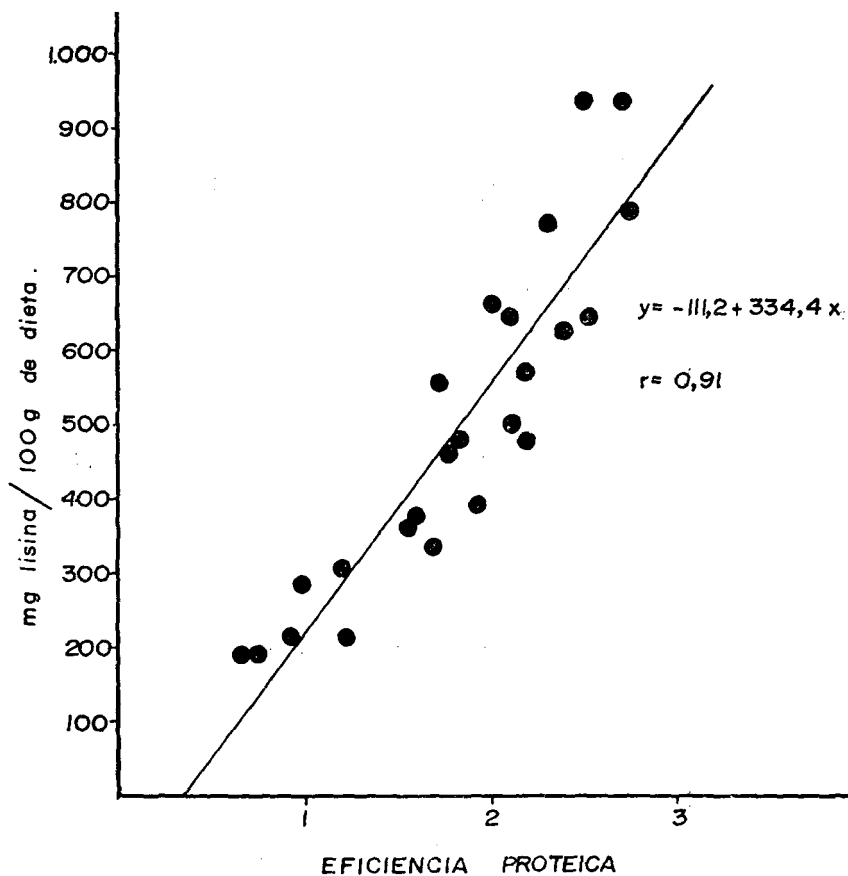
La corrección de las deficiencias aminoacídicas de los cereales puede efectuarse a través de dos mecanismos principales, a saber: selección genética de variedades con un patrón

CUADRO N° 4
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE ARROZ CON HIDROLIZADO ENZIMATICO DE PESCADO (H.E.P.) O LEVADURA CANDIDA UTILIS SOBRE LA RAZON DE EFICIENCIA PROTEICA (PER) EN RATAS.

H. E. P. %	C. utilis %	Proteína %	Crecimiento g	P E R
0	—	6.0	24.8 ± 9.3*	1.60 ± 0.24*
2	—	7.1	54.7 ± 15.2	2.98 ± 0.62
4	—	8.2	80.2 ± 16.8	3.50 ± 0.29
6	—	9.4	109.6 ± 26.0	3.61 ± 0.43
8	—	10.5	121.6 ± 16.0	3.57 ± 0.28
10	—	11.6	126.7 ± 29.6	3.36 ± 0.28
—	0	6.0	24.8 ± 9.2*	1.98 ± 0.46*
—	2	6.9	44.8 ± 18.9	2.79 ± 0.28
—	4	7.8	63.5 ± 14.5	2.80 ± 0.41
—	6	8.8	71.0 ± 13.1	2.79 ± 0.35
—	8	9.7	79.7 ± 10.3	2.71 ± 0.15
—	10	10.6	75.9 ± 16.0	2.33 ± 0.41
Caseína	—	10.9	69.7 ± 16.4	2.79 ± 0.39

* Media aritmética ± D.S.

FIGURA No. 1
CORRELACION ENTRE LA EFICIENCIA PROTEICA Y EL CONTENIDO
DE LISINA EN DIETAS DE HARINA DE TRIGO O MAIZ SUPLEMEN-
TADOS CON HIDROLIZADO ENZIMATICO DE PESCADO O LEVADURA
CANDIDA UTILIS.



aminoacídico mejorado y suplementación con aminoácidos o concentrados proteicos. El primero ha centrado su atención especialmente en el aumento del contenido de lisina (13). Los efectos benéficos logrados con la adición de uno o más aminoácidos (lisina, metionina, treonina y triptofano) a dietas a base de cereales como arroz, trigo, sorgo y maíz como principal fuente de proteína han sido revisados recientemente en un documento del PAG (14).

El empleo de concentrados proteicos en la corrección de deficiencias aminoacídicas y elevación del tenor proteico de las dietas también ha sido suficientemente documentado, destacándose el uso de los concentrados proteicos de pescado, soya y proteínas unicelulares (15) y (16).

Los resultados obtenidos en la presente investigación confirman los hallazgos de otros autores en el sentido de que los concentrados proteicos de origen animal o vegetal mejoran significativamente la concentración y la calidad proteica de una dieta a base de cereales. En nuestro caso el aumento en el contenido de proteína al nivel máximo de suplementación fue diferente según el cereal estudiado. Dicho incremento fue de 51, 80 y 93% respectivamente para trigo, maíz y arroz suplementado con proteína de pescado y 41, 72 y 77% en el caso de *Candida utilis*.

La mejoría de la calidad de la proteína se debe principalmente al aporte de aminoácidos esenciales, entre los cuales la lisina es el más importante ya que es el primer aminoácido limitante en los cereales estudiados. Esto queda demostrado en la Fig. 1 que muestra que la Eficiencia Proteica del trigo y del maíz suplementados es función del contenido de lisina de la dieta, con una correlación significativa de 0.91.

Es obvio que los dos suplementos utilizados aportan además otros aminoácidos limitantes, como la treonina, que es segundo limitante en el trigo y arroz. Es interesante destacar que en nuestro caso tal correlación fue significativamente menor para el arroz ($r = 0.66$), valor que no se modificó al intentar correlacionar la Eficiencia Proteica con el contenido de lisina + treonina de la dieta.

Los resultados de las pruebas biológicas en ratas corroboraron la clara superioridad de la proteína de pescado sobre

la de *Candida utilis*, lo que podría explicarse por el mayor contenido de proteína y de lisina del primero.

Al evaluar los resultados de la suplementación proteica es necesario considerar que las dietas utilizadas en nuestros experimentos no eran isoproteicas y la concentración proteica era en algunos casos inferior al 10% que es la concentración de proteína recomendada como óptima en los experimentos de calidad biológica de proteína. Al proceder al reemplazo gradual de la proteína de cereal por la del suplemento podía esperarse que el hidrolizado de pescado, que tiene una mayor concentración de proteína, reflejara su efecto suplementario al utilizarse en las concentraciones más bajas, supuesto que aportara el nitrógeno necesario y los aminoácidos deficitarios en la proteína suplementada.

Cabe preguntarse cuál sería el efecto de la suplementación a concentraciones mayores como 12 ó 15%, utilizados por algunos autores. A juzgar por los resultados presentes pareciera que en tales condiciones se obtendría una mayor ganancia de peso, aunque presumiblemente sin una mejoría adicional en la eficiencia proteica. Esta relación inversa entre el nivel proteico de la dieta y la eficiencia de la utilización ha sido comunicada por numerosos autores (17).

Los resultados presentados en este estudio confirman de manera fehaciente la posibilidad de mejorar el valor biológico de la proteína de los cereales y por ende abren la posibilidad de mejorar la dieta de vastos sectores humanos que se alimentan principalmente de ellos.

El llevar a la práctica el empleo del trigo y maíz con los concentrados proteicos estudiados no parece constituir un problema difícil de solucionar ya que bajo la forma de harina en que se usa preferentemente la suplementación es fácil de realizar. En cambio el enriquecimiento del arroz parece presentar mayores problemas debido a que este cereal en las preparaciones culinarias corrientes conserva su forma original. Una solución a este problema podría ser la propuesta por Elías y cols. (5) quienes han propuesto el empleo de granos sintéticos constituídos por los concentrados proteicos que se mezclarían con los granos de arroz en una proporción adecuada.

SUMMARY

Supplementation of Cereal Protein with Fish Enzymatic Hydrolysate and *Candida utilis* yeast

In the present study the ability of an enzymatic fish-protein by hydrolysate and the yeast *Candida utilis*, to supplement wheat, rice and corn was studied in the rat. The protein concentrates were incorporated at the levels of 2, 4, 6, 8 and 10%. The impact of supplemented diets on growth and Protein Efficiency Ratio was determined in the rat in a 4 week experiment.

The efficiency of the fish protein hydrolysate was higher than that shown by *C. utilis* in promoting growth. The same effect was observed in protein efficiency ratio. The cereals without supplementation gave the following PER's: wheat flour 0.66, corn 0.94 and rice 1.60. The highest PER values were obtained at the levels of 10% of supplementation for wheat (PER 2.49), 6% for rice (PER 3.61) and 8% in the case of corn (PER 2.73).

Fortification with *C. utilis* also produced an increase in biological quality as shown by protein efficiency ratio while wheat diet gave a PER of 0.74. The same cereal reached a value of 2.10 at the level of 10% of supplementation. Non supplemented corn gave a PER of 1.22, which increased to 2.18 with 8% of the yeast. The PER of rice was 1.98, but 4% of yeast increased that value to 2.80.

The improvement in biological quality of the cereals tested was attributed mainly to the high content of essential amino acids, particularly lysine which is first limiting in wheat, corn and rice.

BIBLIOGRAFIA

1. Jansen, G. R. Implications for maternal nutrition of protein quality improvement of cereals. *Nutr. Rep. Internat.* 7: 555-568, 1973.
2. Ballester, D., M. A. Tagle & G. Donoso. Utilización Proteica Neta de trigo, maíz y algunos derivados de consumo popular. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 1: 235-243, 1962.
3. Carpenter, K. J. Nutritional considerations in attempts to change the chemical composition of crops. *Proc. Nutr. Soc.* 29: 3-12, 1970.
4. Johnson, V. A., P. J. Mattern & J. W. Schmidt. The breeding of wheat and maize with improved nutritional value. *Proc. Nutr. Soc.* 29: 20-31, 1970.
5. Elías, L. G., R. Jarquín, R. Bressani & C. Albertazzi. Suplementación del arroz con concentrados proteicos. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 18: 27-38, 1968.
6. Howe, E. E., G. R. Jansen & E. W. Gilfillan. Amino acid supplementation of cereal grains as related to the world food supply. *Am. J. Clin. Nutr.* 16: 315-320, 1965.
7. Sure, B. The addition of small amounts of defatted fish flour to whole yellow corn, whole wheat, whole and milled rye, grain sorghum and millet. I. Influence on growth and protein efficiency. II. Nutritive value of the minerals in fish flour. *J. Nutr.* 63: 409-416, 1957.

8. Graham, G. G., J. M. Baertl, R. P. Placko & A. Cordano. Dietary protein quality in infants and children. VIII. Wheat —or oat— soy mixtures. *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 875-880, 1972.
9. Jarquín, R., P. Noriega & R. Bressani. Enriquecimiento de harina de trigo, blanca e integral con suplementos de origen animal y vegetal. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 16: 89-103, 1966.
10. Yáñez, E., D. Ballester, N. Fernández, V. Gattás & F. Monckeberg. Chemical composition of *Candida utilis* and the biological quality of the yeast protein. *J. Sci. Fd. Agric.* 23: 581-586, 1972.
11. Rutman, M. Comunicación personal.
12. Chapman, D. G., R. Castillo & J. A. Campbell. Evaluation of protein in foods. I. A method for the determination of protein efficiency ratio. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 679-686, 1959.
13. Improving the Nutrient Quality of Cereals. Report of Workshop on Breeding and Fortification. Agency for International Development. Washington, D. C. June, 1971.
14. FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group, August 1970, United Nations, New York, N. Y.
15. Kwee, W. H., V. D. Sidwell, R. C. Wiley & O. A. Hammerle. Qualitative and nutritive value of pasta made from rice, corn, soya and tapioca enriched with fish protein concentrate. *Cereal Chem.* 46: 78-84, 1969.
16. Edozien, J. C. Yeast for human feeding. New data on safety. FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group, United Nations, New York. Pag. Document 2.23/1, 1969.
17. Morrison, A. B., Z. I. Sabry, N. T. Gridgeman & J. A. Campbell. Evaluation of protein in foods. VIII. Influence of quality and quantity of dietary protein on net protein utilization. *Can. J. Biochem. Physiol.* 41: 275-281, 1963.

Esta investigación fue financiada en parte por una donación de la Industria Azucarera Nacional, S. A. (IANSA).