

## Tecnología para la utilización integral de la levadura de cerveza en la industria alimenticia

*Miguel A. Otero, Agustín Cabello, María C. Vasallo, Lourdes García y Juan López*

Departamento de Bioquímica, División de Biotecnología, Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). La Habana, Cuba

**RESUMEN.** Se desarrolló un esquema flexible para el fraccionamiento de la levadura de cerveza. El procedimiento permite la producción de diferentes productos tales como: hojuelas de levadura, tabletas de levadura, salsa de mesa a base de extracto de levadura, concentrados de proteína y salsa de imitación de soja. Las investigaciones requeridas para el procedimiento de una ton de levadura esta por debajo de 2 millones de dólares con una rentabilidad superior al 53%. Las investigaciones se recuperan en 0.75 años.

La producción de ingredientes alimentarios a partir de levadura revaloriza su biomasa alrededor de 25 veces. La presente tecnología es comparada con otros procesos de fraccionamiento de biomasa teniendo en cuenta la utilización de todas las corrientes tecnológicas donde el proceso deviene ambientalmente amigable ya que la producción de afluentes es significativamente menor que tecnologías similares.

**Palabras clave:** Proteínas de levadura, disrupción celular, extracto de levadura, fraccionamiento de levadura, levadura de cerveza, salsa de imitación de soja.

**SUMMARY.** **Technology for the whole utilization of brewer's yeast in food industry.** A flexible scheme for the fractionation of brewer's yeast was developed. The procedure allows the production of different products such as: dry yeast flakes, dry yeast pills, yeast-extract based table sauce, yeast protein concentrates and soy-like sauce. The investment required for the processing of one ton per day is below 2 million dollars with an overall profitability higher than 53%. Investment is recovered in 0.75 years.

The production of food ingredients from yeast upgrades its biomass about 25 fold. Present procedure is compared with other biomass fractionation processes taking into account the utilization of all technological streams where the process becomes environmentally friendly since effluent production significantly lower than similar technologies.

**Key words:** Yeast proteins, cell disruption, yeast extract, cell fractionation, brewer's yeast, soy-like sauce.

### INTRODUCCION

El explosivo desarrollo de la producción de aditivos alimentarios no tradicionales a nivel mundial en los últimos años, ha establecido un importante mercado internacional que alcanza un nivel de operaciones de orden de los miles de millones de USD anualmente (1). Esta envergadura comercial es atribuible a diferentes factores entre los que se encuentran la factibilidad de procesamiento de los alimentos en el hogar o centros de consumo colectivo, la necesidad de aumentar la estabilidad de los alimentos en el almacén o en la vidriera de ventas, la satisfacción de necesidades de índole dietética como es el bajo contenido de colesterol entre otros, la disminución de los costos de producción y la suplementación de nutrientes en programas de alimentación masiva subsidiados para sectores de bajos ingresos etc.

Dentro de la amplia gama de aditivos e ingredientes que se comercializan, algunos resultan de especial interés por su variedad de aplicaciones o por las fuentes de materias primas a partir de las que se producen.

La biomasa microbiana, y en particular la de las levaduras, es una fuente de productos de interés alimentario conocida básicamente por su capacidad de generar CO<sub>2</sub> en las industrias panadera y de bebida alcohólicas (2). Se ha utilizado de forma importante en la producción de extractos como saborizantes (3,4) lo que compone su segundo uso mayoritario. Sin embargo, la biomasa de levadura es a un mismo tiempo, una fuente interesante de muchos compuestos de interés alimentario y farmacéutico (5). Entre los componentes de mayor atractivo se encuentran los polisacáridos y las proteínas, que constituyen entre ambos, más del 70% del peso seco de la célula.

Las proteínas como ingredientes alimentarios, han sido objeto de numerosas investigaciones, dadas sus propiedades funcionales, especialmente las derivadas de la soja que están ampliamente extendidas en la industria alimenticia actual (5-9).

Los contenidos de proteínas de las levaduras de recuperación de cerveza son superiores a 50% con un perfil de aminoácidos en éstas, comparable a la de la soja y otras

fuentes de origen vegetal, es un recurso existente en la mayoría de los países de nuestra región.

Latinoamérica produjo en 1994, más de 12 mil millones de litros de cerveza (10) de los que se derivan alrededor de 20 mil ton anuales de proteínas que actualmente se emplean en la producción de saborizantes y en la alimentación animal básicamente.

El presente trabajo propone un esquema integral de utilización de la levadura para la obtención de diferentes productos para la suplementación nutricional, potenciación de sabor e ingredientes funcionales para la formulación de sistemas de alimentación complejos.

## MATERIALES Y METODOS

### Materia prima y preparación

Se utilizó levadura de recuperación de la producción de cerveza, extraída del proceso en la etapa de fermentación, obtenida de la firma Brahma en el nordeste brasileño. Antes de someterla al fraccionamiento, la levadura fue desamargada por lavado con agua, seguida de centrifugación.

### Análisis químico

Las muestras de los diferentes productos fueron analizadas para estimar sus componentes individuales.

### Nitrógeno orgánico

Fue determinado por digestión ácida según Kjeldahl (11).

### Acido nucleico

Se utilizó el método de extracción con ácido perclórico en caliente según la metodología propuesta por Rut (12). Doscientos (200) mg de levadura seca o su equivalente en forma húmeda, fueron extraídos con 5 mL de HClO<sub>4</sub> 0.5M en agua por 5 min a 90°C con agitación ocasional. El sobrenadante fue separado por centrifugación y el sedimento lavado con igual volumen del ácido a temperatura ambiente. El sobrenadante resultante se unió con el anterior y se tomó una alícuota de 1 mL y se llevó a 100 mL con el ácido anterior. La solución fue leída a 270 y 290 nm contra un blanco de ácido. El contenido de ácido nucleico expresados como ARN fue calculado por la expresión siguiente:

$$\% \text{ de ARN} = 100 \cdot (\lambda_{270\text{nm}} - \lambda_{290\text{nm}}) \cdot 250 / 16.3. \text{ (Peso muestra seca mg)}$$

### Hidrato de carbono

Los hidratos de carbono fueron determinados por el método del fenol-sulfúrico (13).

### Lípidos

Se estimaron por extracción con eter etílico bajo reflujo y determinación gravimétrica.

### Propiedades funcionales

La capacidad de emulsión se llevó a cabo según Webb (14) con ligeras modificaciones. Cien ml de solución conteniendo 2mL de solución acuosa de proteínas (30mg/mL) y 98mL de buffer fosfato 0.01M, pH 7 fueron vertidos en una mezcladora de alta velocidad equipada con dos electrodos para la medición de la conductividad. El vaso con los ingredientes de la mezcla fueron pesados e inmediatamente se adicionó aceite puro de maíz a razón de 25mL/min bajo agitación constante (3000 min<sup>-1</sup>) hasta que la conductividad se igualó a cero (punto de inversión). El vaso y la emulsión formada se pesaron nuevamente y se determinó el aceite incorporado. La capacidad de emulsión se expresó como mg de aceite/mg de proteína. La capacidad de retención de agua (CRA) fue estimada dispersando las muestras en agua destilada a 10mg/mL con agitación ocasional en un vortex por 1 hora a 25°C de acuerdo con Petrucelli y Añón (5). Las dispersiones obtenidas (pH 6) se centrifugaron a 10000g por 30 min a 15°C. El contenido de proteína en el sobrenadante fue estimado por Folin (15). La CRA fue determinada en el precipitado resultante de la centrifugación dejando drenar el tubo, previamente tarado, en un ángulo de 45° por 30 min y tomando el peso del sedimento. Este fue trasvasado a una cápsula tarada y colocado en una estufa a 105°C por 12 horas. La cantidad de agua retenida se reportó respecto a la proteína verdadera presente. La capacidad de enlace de aceite (CEA) fue determinada mezclando 4 mL de aceite de maíz con 0.5g de concentrado de proteína liofilizado en un tubo de centrifuga de 10mL previamente tarado. La mezcla se dejó estar por 30 min a 25°C y fue centrifugada a continuación. El tubo se colocó invertido en ángulo de 45° y se dejó drenar por una hora sobre papel filtro. Por último el tubo fue pesado nuevamente y la cantidad de aceite retenido determinado por diferencia de peso. Este se expresó como g de aceite por g de proteína.

### Procesamiento estadístico

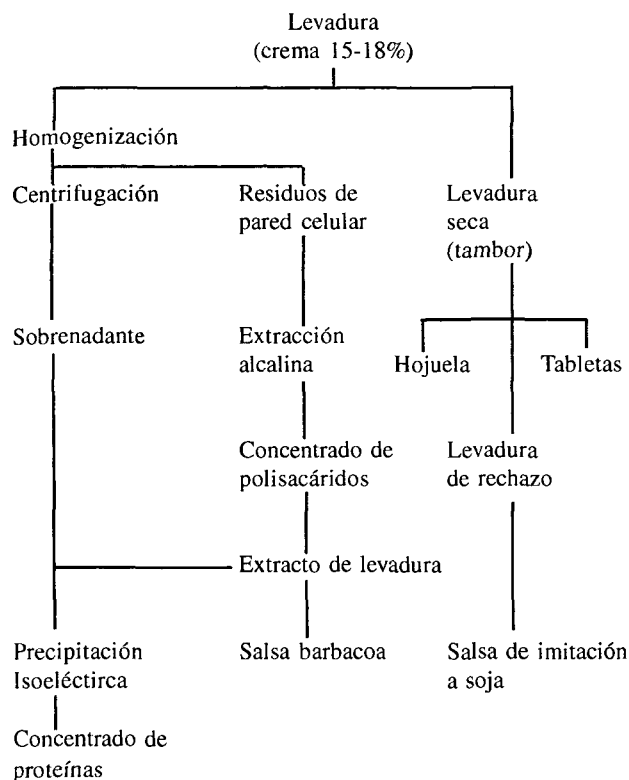
Las muestras por duplicado fueron sometidas al análisis de varianzas a través del programa Statgraphics.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 muestra el esquema de fraccionamiento de la levadura, el proceso diseñado ha sido comprobado de igual forma en otras especies de levadura como *Saccharomyces cerevisiae* panadera, *Kluyveromyces fragilis* y *Candida utilis*. La etapa de aislamiento, y en especial la temperatura, es de suma importancia en la posterior funcionalidad de los concentrados de proteína (10,16).

FIGURA 1

Esquema simplificado de producción de aditivos y suplementos alimentarios a partir de levadura de cerveza



La Tabla 1 ofrece la composición de los concentrados de proteína de levadura. Los niveles de proteína están en el entorno de 70%. El nivel de ácidos nucleicos, resulta inferior a 3%. Este factor es importante desde que las interacciones entre proteínas y ácidos nucleicos para formar nucleoproteínas afectan significativamente la solubilidad de las mismas (16). El remanente de hidratos de carbono no incide en la funcionalidad de éstos.

TABLA 1  
Composición química de concentrados de proteínas y extracto de levadura de cerveza\* (g/100g)

	Concentrado de proteínas	Proteína de pared celular	Extracto de levadura
Humedad	5.02±0.35'	3.29±0.54 <sup>b</sup>	30.05±1.33
Proteína	71.40±1.20'	72.31±0.86'	36.04±0.37
Hidrato de carbono	15.31±0.75'	19.02±0.32 <sup>b</sup>	8.81±0.39
Acidos nucleicos	3.00±0.31'	0.29±0.35'	13.93±1.03
Lípidos	4.10±0.13'	4.10±0.31 <sup>b</sup>	0.10±0.09

Todas las determinaciones por duplicado; valores con igual exponente no difieren entre si para p ≤ 0.05

Algunas propiedades funcionales de los concentrados de proteína se muestran en la Tabla 2. Aunque las propiedades analizadas no presentan diferencias significativas entre las proteínas extraídas de las paredes celulares, estas últimas presentaron una menor solubilidad (resultados no publicados). Esto se debe a las condiciones de extracción alcalina que induce elevados grados de desnaturalización (17).

TABLA 2  
Propiedades de hidratación, enlace de aceite y capacidad emulsionante de las proteínas aisladas de levadura de cerveza\*

	Concentrado de proteínas	Proteína de pared celular	Proteína de C. utilis (17)
Capacidad de retención de agua, %	424±12.51'	408±11.77'	224
Capacidad de enlace de aceite, %	92.0±0.92'	103,0±1.25 <sup>b</sup>	90
Capacidad de emulsión**, g aceite/g proteína	144±3.31 <sup>a</sup>	139±2.98 <sup>a</sup>	—

\* Todos los valores medios de determinaciones triplicadas  
\*\* Concentración de proteína 2.5%, pH 6.0 frente a aceite de maíz. Valores con igual exponente no difieren para p ≤ 0.05

Los residuos celulares son ricos en polisacáridos estructurales y de reserva. Estos se obtienen después de la separación del extracto diluido y poseen una funcionalidad limitada. El tratamiento de extracción alcalina de las proteínas remanentes en los residuos, duplica la CRA e incrementa 20 veces la CEA. Los resultado se ofrecen en la Tabla 3. Producto del tratamiento, el contenido de hidratos de carbono se eleva hasta 88% en los residuos tratados.

TABLA 3  
Composición de residuos de pared celular antes y después de la extracción alcalina (g/100 g)

	Residuos de homogenización	Residuos de extracción
Humedad	ND	2.0±0.15
Proteína	36.0±1.01	3.7±0.21
Hidratos de carbono	48.0±0.99	88.3±1.03
ARN	4.8±0.22	2.0±0.19
Lípidos	6.4±0.10	1.5±0.09

ND= no determinado

### Elaboración de salsa para carnes a partir de extracto de levadura y salsa de imitación a soja

La producción y utilización del extracto de levadura es conocida desde hace tiempo en la industria alimenticia como materia prima (4) y existen numerosas firmas productoras de una gran tradición en el mercado internacional, lo que limita su lanzamiento al mercado por un productor emergente. Sin embargo, si a partir de éste se elabora un producto terminado, cualitativamente diferente, los espacios de introducción se abren. La producción de salsas de mesa como saborizantes directos al consumidor es una alternativa interesante.

La Tabla 4 muestra algunas variantes de salsas de diferentes tipos, elaboradas a partir de extractos de levadura suplementados con productos tradicionales en el mercado.

TABLE 4  
Formulaciones para la elaboración de salsas de mesa a partir de extracto de levadura

Producto (% base húmeda)	Formulaciones					
	I	II	III	IV	V	VI
Extracto de levadura	48.7	41.5	49.4	47.8	47.4	57.0
Agua	36.7	31.2	37.2	35.9	35.6	43.0
Pasta de ajo comercial	13.2	11.2	13.4	12.9	No	No
Pimienta en polvo	1.4	1.2	No	1.4	No	No
Azúcar refino	No	14.9	No	No	17.0	No
Mezcla de hierbas*	No	No	No	2.0	No	No

\*Producto comercial compuesto de varios tipos de hojas secas: silantro, tomillo, etc.

De las variantes analizadas resultó la más promisoría, la muestra # 4, que asemeja a las salsas tipo barbacoa y resulta un aderezo apropiado para carnes asadas.

La levadura seca rechazada en la producción de hojuelas o tabletas, genera una fracción que puede resultar altamente contaminante. Esta puede ser reprocesada en la producción de una salsa con sabor semejante a las salsas de soja obtenidas por hidrólisis de las proteínas presentes en el frijol. El proceso comprende la hidrólisis ácida a temperaturas de 120-160°C (18), neutralización y centrifugación. El proceso solubiliza alrededor del 90% del producto sometido al tratamiento. Posteriormente, se eleva el contenido salino hasta 18-20% (19). La evaluación sensorial de esta salsa en comparación con una salsa comercial no rindió diferencias significativas (18).

### Balance económico de la producción

La Tabla 5 ofrece el balance económico para las tres líneas de producción considerándolas de forma independiente. No se incluye la producción de la salsa de imitación por depender, en el presente enfoque del volumen variable de la levadura seca de rechazo. La producción de hojuelas de levadura es la de más baja rentabilidad, y aun así, presenta un tiempo de recuperación de la inversión de 1,15 años. Las otras dos alternativas ofrecen índices muy superiores.

TABLE 5  
Cálculo del valor de producción y rentabilidad de una planta con capacidad para procesar 1 ton de levadura operando con tres esquemas diferentes de producción\*

Indicador	Hojuela, 8% humedad	Tabletas, 8% humedad	Salsa cárnica	+ Concentrado de polisacáridos	= total
Producción, ton	0.92	0.90	1.94	0.92	
Costo producción, U\$D	2246.69	1908.88	1032.75	156.65	
Comercialización, U\$D (15% sobre facturación)	1518.00	1909.23	1184.33	341.82	
Impuestos, U\$D (40% sobre facturación)	4048.00	5091.43	3158.42	911.65	
Total de gastos, U\$D	7812.69	8909.60	5375.30	1253.52	6628.82
Precio unitario, U\$D/kg	11.00	14.14	4.07	2.48	
Valor de producción, U\$D	10120.00	12728.57	7895.56	2279.12	10174.68
Ganancias, U\$D	2307.31	3520.36	1025.60	3545.86	
Rentabilidad, %	42.86	46.89	81.82	53.49	
Recuperación, años	0.70	1.06	2.60	0.75	

Cálculos a través de programa Prospin. Costos utilizados, los vigentes en el nordeste brasileño para 1996. Precios de los productos. 80% de sus similares en el mercado mundial

### CONCLUSIONES

La producción de aditivos alimentarios a partir de levaduras es técnica y económicamente viable y se obtienen productos de aplicación en la industria alimenticia con propiedades similares a otros establecidos en el mercado. Existe en la actualidad un caudal de conocimiento tecnológico suficiente para acometer desarrollos tecnológicos con producciones competitivas en el mercado internacional. El esquema desarrollado conduce a producciones limpias desde el punto de vista ecológico por cuanto todas las corrientes tecnológicas son aprovechadas en el proceso.

### REFERENCIAS

1. Anon. Natural food trends spurs additives gains. *Int J Instrument Control* 1994;41(11):18.
2. Heslot H, Vladescu B. Editors. *La levure dans les industries alimentaires*. Paris: Technique et Documentation. 1994.
3. Trivedy N. Yeast Derivatives. En: S.K. Hariander, T.P. Labuza eds. *Biotechnology in Food Processing*. Noyes Publication. Park Ridge, New Jersey. 1986;115-128.
4. Dziezak J. Yeast and yeast derivatives. Applications. *Food Technol.* 1987;32:122-125.
5. Kollar R, Sturdik E, Dajbidor J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. *Food Biotechnol.* 1992;6:225-237.
6. Petrucelli S, Añón MC. Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates. I. Hydration properties. *J Agric Food Chem* 1994a;42:2161-2169.
7. Petrucelli S, Añón MC. Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates. II. Surface properties. *J Agric Food Chem* 1994b;42:2170-2176.
8. Petrucelli S, Añón MC. Soy protein isolate components and their interactions. *J Agric Food Chem.* 1995;43:1762-1767.
9. Wagner JR, Sorgentini DA, Añón MC. Thermal and electrophoretic behavior, hydrophobicity and some functional properties of soy protein isolates. *J Agric Food Chem* 1996;44:1881-1889.
10. Otero MA, Wagner JR, Vasallo MC, Añón MC, García L. Propiedades térmicas y funcionales de concentrados de proteínas de levadura. *Memorias Primer Congreso Nacional de Alimentación y Nutrición*. La Habana. Cuba 1997;1-7.
11. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 13<sup>th</sup> edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 1980.
12. Rut M. La determinación de ácidos nucleicos en levadura. *Kvasny prumysl.* 1973;19:131-133.
13. Dubois M, Guillen KH, Hamilton JK, Rebers F, Smith F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 1956;28:349-356.
14. Webb NB, Ivey FJ, Craig HB, Jones VA, Monroe RJ. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. *J Food Sci.* 1970;35:501-504.
15. Lowry OH, Farr AL, Rosebrough NJ and Randall RJ. Protein measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. *J Food Sci.* 1951;193:265-275.
16. Otero MA, Wagner JR, Vasallo MC, García L, Añón MC. Thermal behavior and hydration properties of yeast proteins from *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces fragilis*. *Food Chem* 69:161-165.
17. Gierhart DL, Potter NN. Effects of ribonucleic acid removal methods on composition and functional properties of *Candida utilis*. *J Food Sci.* 1978;43:1705-1713.
18. Otero MA, Cabello AJ, Vasallo MC, García L, López JC. Preparation of an imitation soy sauce from hydrolyzed dried yeast *Candida utilis*. *J Food Proc Preserv.* 22:471-483.
19. Luh BS. Industrial production of soy sauce. *J Ind Microbiol* 14:467-471.

Recibido:29-01-1998

Aceptado:16-11-2000