

**ESTUDIO DEL VALOR BIOLÓGICO DE LA PROTEÍNA
UNICELULAR DE
*Kluyveromyces marxianus var. lactis*¹**

Marta S. Carrasco de Mendoza^{2,3}, *Juan C. Basílico*³,
*Graciela Umansky*³ y *Hugo E. Scarinci*³

**Facultad de ingeniería Química
Universidad Nacional del Litoral
Santa Fe, Argentina**

RESUMEN

La agudización del problema de contaminación ambiental y la escasez de proteínas, nos condujo a producir biomasa proteínica a partir de suero efluente de quesería, habiendo seleccionado para ello una cepa de *Kluyveromyces marxianus var. lactis*. La misma acusó una relación adecuada entre su contenido proteínico (53.3 % b. s.) y el de RNA (4.63 % b. s.)

Por otra parte, la distribución de sus aminoácidos esenciales es balanceada, aunque deficitaria en metionina, cuyo valor es de 1.5 g/16 g N.

El objeto del presente estudio fue evaluar la calidad biológica de este concentrado proteínico para su aprovechamiento en alimentación animal.

La calidad de la proteína se determinó por el método de utilización proteínica neta (NPU), según la técnica de Miller y Bender.

Se prepararon tres dietas balanceadas (10% de proteína), la testigo con caseína y las dos restantes con biomasa proteínica, una de ellas suplementada con metionina (0.5g/100g dieta).

A partir de los resultados, se puede concluir que la biomasa sometida a ensayo posee un valor biológico adecuado (55.37%) para su empleo en alimentación animal, especialmente cuando a la misma se le incorpora metionina (60.23%).

Manuscrito modificado recibido: 26-9-89.

- 1 Este trabajo se llevó a cabo bajo los auspicios de la Secretaría de Ciencia y Tecnología del Ministerio de Justicia y Educación de la Nación Argentina (SECYT), Subsidio No. 11782/84 - 03.
- 2 Directora del Proyecto de SECYT: "Investigación de la Naturaleza Proteínica de Biomásas Celulares Producidas con Levaduras Lácteas Usando Suero de Quesería". Las solicitudes de reimpresos deben dirigirse a la Dra. Carrasco de Mendoza, Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero 2829 (3,000) Santa Fe, Argentina.
- 3 Miembros del citado Departamento.

INTRODUCCION

La escasez de alimentos de alto contenido proteínico y la agudización de la contaminación ambiental, han impulsado la búsqueda de nuevos recursos y metodologías para enfrentar y solucionar dichos problemas.

Entre estos recursos están los numerosos desechos de diversos tipos y orígenes que, mediante un procesamiento adecuado, pueden ser convertidos en alimento para humanos, forrajes, fertilizantes, etc. (1-3). Se han efectuado numerosos estudios sobre la factibilidad de producir proteínas por métodos no convencionales.

En nuestro país, el suero de quesería es uno de los efluentes contaminantes del ambiente, y es en su mayor parte desaprovechado. Por su bajo contenido en proteínas, no constituye un elemento apto para su uso directo en la alimentación, a pesar de su buena composición en aminoácidos y vitaminas (4-6).

Por los motivos expuestos, procedimos al estudio del valor biológico de la proteína unicelular de una cepa de *Kluyveromyces marxianus var. lactis*. Esta se propagó utilizando suero de quesería como sustrato base, siendo seleccionada de acuerdo a su composición química adecuada, según un trabajo anterior de los mismos autores denominado "Estudio de la composición química de biomasa celular de levaduras", el cual fue sometido para su publicación a la *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición*.

TABLA 1
COMPOSICION QUIMICA DE LA BIOMASA PROTEINICA
(100 g base seca)

Análisis	<i>Kluyveromyces marxianus var. lactis</i>
N total	8.81
Proteína total ^a	55.06
Proteína verdadera ^b	53.47
N digerible	8.50
NSI ^c	44.04
RNA	4.63

a g de proteína total = g N x 6.25.

b Determinada con reactivo de Folin.

c Expresado como: g N en solución / g N total.

TABLA 2

COMPOSICION EN AMINOACIDOS ESENCIALES DEL PREPARADO PROTEINICO, CASEINA, ALBUMINA DE HUEVO, HARINA DE SOJA Y REQUERIMIENTOS DE LA FAO/OMS PARA INFANTES

Aminócidos	Biomasa proteínica	Caseína	Albúmina de huevo	Harina de soja	FAO/OMS
g/16 g N					
Lisina	6.2	8.0	6.5	6.2	5.2
Treonina	4.8	4.3	5.1	5.3	4.4
Metionina	1.5	3.1	3.2	1.3	2.9 ^a
Cistina	1.1	0.4	2.4	1.3	—
Triptofano	1.1	1.3	1.6	1.3	0.89
Isoleucina	4.1	6.6	6.7	4.5	3.5
Leucina	7.5	10.5	8.5	7.7	8.0
Valina	4.6	7.4	7.3	4.5	4.7
Fenilalanina	3.9	5.4	5.8	5.1	6.3 ^b

a Metionina + cistina.

b Fenilalanina + tirosina.

MATERIAL Y METODOS

Microorganismos — Se empleó una cepa de *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* aislada de kefir, seleccionada en un trabajo previo (7, 8).

Propagación — Esta se llevó a cabo en las condiciones óptimas de crecimiento celular utilizando suero de quesería como sustrato base (9).

Al final del período experimental, el peso alcanzado por los animales del lote II, fue máximo. No hubo diferencias con los grupos restantes que tuvieron una evolución ponderal muy próxima.

En la Tabla 3 se consignan los valores de NPU, digestibilidad verdadera y valor biológico.

La NPU obtenida para la biomasa fue 51.53, valor que habla de un aprovechamiento bajo de nitrógeno. Este resultado, predecible en parte debido al bajo tenor en aminoácidos azufrados de la biomasa, nos llevó a realizar simultáneamente la experiencia con la misma dieta suplementada con metionina. El valor así obtenido aumentó 9%. No obstante el incremento logrado, dicho valor es aún bajo, ya que dietas a base de caseína suplementadas con metionina (16) alcanzan una NPU de 88. Esto podría deberse a que algunos de los aminoácidos presentes no serían biológicamente disponibles.

El valor biológico determinado (55.37) es concordante con el que se obtiene analizando proteínas de levaduras de diferentes géneros. Este se logra mejorar adicionándole metionina (60.23).

Podemos concluir, que aun cuando la biomasa no acusa un valor biológico, la distribución de sus aminoácidos esenciales —en particular su contenido en lisina— permite su asociación con harinas vegetales deficientes en dicho

TABLA 3
VALOR BIOLÓGICO DEL PREPARADO PROTEÍNICÓ OBTENIDO
POR FERMENTACIÓN

Fuente de proteína en la dieta	NPU	DV	VB (%)
Caseína	57,52	93,05	61.82
Biomasa proteínica	51.53	93.07	55.37
Biomasa proteínica + DL-metionina	56.20	93.32	60.23

aminoácido y con buenos valores de azufrados. Así se logra un producto balanceado de mejor calidad proteínica y apto para ser utilizado en alimentación animal.

Por último, cabe destacar que la transformación del suero de queso por el proceso fermentativo que nos ocupa, además de generar un producto con valor comercial, permite resolver parte del problema de polución que origina su eliminación sin el tratamiento adecuado.

Análisis químico — El concentrado proteínico fue liofilizado y sometido a los siguientes análisis químicos:

Humedad por el método gravimétrico (10);

Nitrógeno total, aplicando el método de Kjeldahl (micro) (10);

Proteína verdadera, se determinó según la técnica de Folin-Ciocalteu (11);

Nitrógeno digerible, por la técnica enzimática (10);

Índice de solubilidad de nitrógeno (NSI), de nuevo por micro Kjeldahl (12); y nucleoproteínas. En este caso se usó el procedimiento espectrofotométrico, utilizando el reactivo de orcinol (13).

La determinación de aminoácidos se efectuó como sigue: La muestra fue tratada con HCL 6N en autoclave. y analizada utilizando un equipo automático Beckman-Spinco Modelo 120, de acuerdo con la técnica descrita por Vary y Johnson (14).

Determinación del valor biológico — El valor biológico del preparado proteínico fue determinado según Miller y Bender (15, 16), a partir del valor de utilización proteínica neta (NPU) y el de digestibilidad verdadera (D).

La experiencia se llevó a cabo utilizando ejemplares machos de la cepa Wistar de 30 ± 1 día de edad.

Se formaron al azar lotes de cinco ratas cada uno, los que se alojaron en jaulas metabólicas y en cámaras reguladas a 23 °C, con ciclos luz-oscuridad de 12 horas.

Las dietas preparadas, adecuadas para la especie y fase de crecimiento (17-19) eran similares para todos los lotes, siendo su composición básica:

Proteína	10.0%
Grasa	15.0%
Almidón	46.5%
Glucosa	15.0%
Sales minerales	4.0%
Vitaminas	1.5%
Celulosa	8.0%

En lo referente a la fuente proteínica (10%), para cada lote, ésta estuvo constituida como se detalla seguidamente:

Lote I	(blanco)	Sin proteína
Lote II	(testigo)	Caseína
Lote III		Biomasa proteínica
Lote IV		Biomasa proteínica adicionada de DL-metionina (0.5 g/100g dieta)

La comida y agua de beber fueron suministradas *ad libitum*, llevándose a cabo el control ponderal de los animales cada 24 horas, durante un período de 10 días. Al término de la experiencia los animales fueron pesados, sacrificados y sus carcasas, desecadas a 105 °C.

Se procedió luego a la determinación del contenido de nitrógeno total en las carcasas y heces de cada lote, utilizando el método de Kjeldahl.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta la composición química de la biomasa obtenida por fermentación.

Como lo indican los datos, el contenido proteínico es alto, apreciándose, asimismo, un bajo tenor de RNA. Ambos parámetros son muy importantes cuando el propósito es destinar la proteína unicelular a la alimentación animal o humana. Además, se observa una buena solubilidad y digestibilidad enzimática.

La distribución de aminoácidos esenciales del preparado proteínico en comparación con la caseína, albúmina de huevo y harina de soja se muestra en la Tabla 2, consideradas como proteínas representativas en dietas de alimentación. De la misma se deduce que el contenido de metionina es marcadamente inferior al que presentan la caseína y la albúmina de huevo, siendo similar al de la harina de soja. Respecto a los otros aminoácidos esenciales, acusa una distribución adecuada y equilibrada.

En la Figura 1 podemos observar la evolución ponderal de los animales sometidos a las dietas con diferentes fuentes proteínicas.

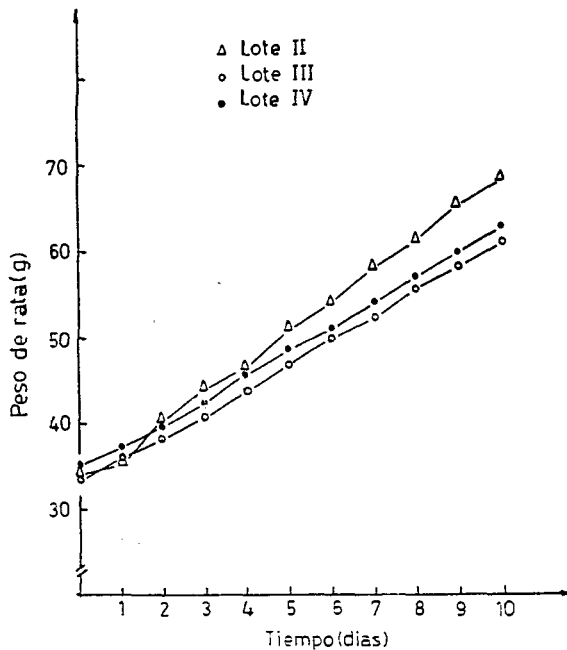


FIGURA 1

Evolución ponderal.

SUMMARY

STUDY OF THE BIOLOGICAL VALUE OF THE UNICELLULAR PROTEIN OF *Kluyveromyces marxianus*, var. *lactis*

The ever increasing problem of environmental pollution and protein scarcity led us to begin producing protein biomass from cheese whey, having selected for this aim, *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* strain, which represents the right relationship between its protein content (53.3% d. w.) and that of the RNA (4.63% d.w.).

On the other hand, the distribution of its essential amino acids is balanced, although it shows a deficiency in methionine, its value being 1.5 g/16 gN. The purpose of this work was to assess the biological quality of this protein concentrate, so as to use it in animal feeding.

Protein quality was determined by the NPU method (net protein utilization), according to Miller and Bender's technique.

Three balanced diets were prepared (10% protein), the test sample with casein, and the rest with protein biomass, one of them supplemented with methionine (0.5 g/100 g food).

Based on the results it can be concluded that the biomass analyzed has an adequate biological value (55.37%) for use in animal feeding, especially when methionine is added (60.23%).

BIBLIOGRAFIA

1. Hedenskog, G & H. Mogren. Some methods for processing of single-cell protein *Biotech, and Bioing*, **40**: 129 - 142 - 1973.
2. Molina, O., D. Callieri & N. Perotti de Gálves. Producción de proteínas bacteriana a partir de médula de bagazo de caña de azúcar. *Rev. Latinoamericana de Microbiología*, **22**: 123 - 129, 1980.
3. Hoogerheide, j. & K. Yamada. Guidelines for testing of single-cell protein destined as protein source for animal feed. *Appl. Chem.*, **51**: 2537 - 2560, 1979.
4. Mignone, C., A. Balatti & L. Mazza. Obtención de un preparado proteico por fermentación. Valoración biológica y estudios de alimentación con aves. *Rev. Latinoamericana de Microbiología*, **24**: 25 - 33, 1982 .
5. Rose, H. Biomass from whey. In: *Economic Microbiology*. New York, N.Y. Academic Press, Inc., 1979, p. 208-269.
6. Vananuvat, P. & J. Kinsella. Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis*. Batch culture studies. *J. Food Sci.*, **40**: 336 - 339, 1975.
7. Bonino, A., M. Carrasco, A. Flamini, M. Olivo & F. Pomar. Aislamiento y conservación de cepas de levaduras lácticas autóctonas. *Rev. Fac. de Ing. Qca UNL*, **44**: 123 - 132, 1980.
8. Kriger Van Rij, N. J. *The Yeast*. 3rd ed., B. V. Gromigen, the Netherlands, Elsevier Sc. Publishers, 1984.
9. Bainotti, A., J. C. Basílico & M. carrasco de Mensoza. Optimización de condiciones para la producción discontinua de proteína unicelular utilizando suero de leche. *Rev. Arg. de Microbiología*, **19**: 1 - 7, 1987.
10. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 13 th. ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
11. Lawry, O., N. Rosembrough, A. Farr & R. Randall. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 295 - 297, 1951.
12. American Oil Chemists Society. *Official and Tentative Methods of the AOCS Nitrogen solubility index*. BA 11 - 65. ed. Champaign, Illinois, AOCS, 1973.
13. Trevelyan, W. & J. Harrison. Studies of yeasts. *Biochem. J.*, **63**: 23 - 33, 1956.
14. Vary, P. & M. Johnson. Cell yields of bacteria grown on methane. *Appl. Microbiol*, **15**: 1473 - 1478, 1956.
15. Miller, D. & A. Bender. The determination of the net utilization of protein by a shortened method. *Brit. J. Nutrition*, **9**: 382 - 388, 1955.
16. Pellett, P. & V. Young. *Nutritional Evaluation of Protein Foods*. Tokyo, the United Nations University, 1980.
17. Report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutrition*, **107**: 1340 - 1348, 1977.
18. Second report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutrition*, **110**: 1726, 1980.
19. Sambucetti, M., G. Gallegos & J. Sanahuja. Estudio de la proteína extraída de semilla de lino. Valor nutritivo e inocuidad. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **23**: 79 - 86, 1973.