

Cinética de liberación de ácidos nucleicos y proteínas durante el tratamiento térmico con hidróxido de amonio en levadura panadera

R. ALVAREZ Y B. AGUILA

*Dpto. Fermentaciones, Centro Nacional de Investigaciones Científicas,
La Habana, Cuba*

Recibido: 31 de agosto de 1982

ABSTRACT. The liberation of nucleic acids and the losses of biomass and proteins with the time are reported at different temperatures of incubation, from 45°C to 80°C, using ammonium hydroxide in concentration of approximately 5% based on dry yeast weight. At 65°C during 30 minutes, a final product was obtained with a nucleic acid content of 1,30%, showing during the process losses of biomass and proteins of 19,9% and 10,1% respectively.

RESUMEN. En este trabajo se reporta la liberación de los ácidos nucleicos y las pérdidas de biomasa y proteína con el tiempo a diferentes temperaturas de incubación, en el rango de 45-80°C, utilizando hidróxido de amonio en concentraciones de aproximadamente 5% en base seca de levadura. A una temperatura de 65°C durante 30 minutos, se obtuvo un producto final con un contenido de ácidos nucleicos de 1,30%, mostrando durante el proceso pérdidas de biomasa y proteína de 19,9% y 10,1%, respectivamente.

INTRODUCCION

El uso de los microorganismos, principalmente levaduras, para el consumo humano, ha cobrado gran interés en los últimos 15 años, debido al continuo aumento de la población mundial y a la limitación de las fuentes naturales para el abastecimiento de proteínas¹.

Sin embargo, su empleo se ve limitado entre otros aspectos, por el alto contenido de ácidos nucleicos y la baja digestibilidad de su pared celular, lo cual limita su uso a no más de 20-30 g de levadura en la dieta^{2,3}.

Con vista a reducir el contenido de ácidos nucleicos, en la levadura panadera, *Saccharomyces cerevisiae*, se ha empleado un tratamiento térmico con hidróxido de amonio. En el presente trabajo se muestra la

cinética de liberación de ácidos nucleicos y de proteínas durante el proceso.

MATERIALES Y METODOS

Para nuestro estudio se utilizó levadura panadera (*S. cerevisiae*) suministrada por la planta "Héroes de Bolivia", manteniéndose a 4°C no más de 7 días, para ser utilizada en los experimentos. Para los mismos se empleó hidróxido de amonio al 25%, preparándose las suspensiones con una concentración en hidróxido de aproximadamente 5% en base seca de levadura.

El proceso se llevó a cabo en un reactor de 2 l, con agitación mecánica, inmerso en un termostato a la temperatura deseada, de 45 a 80°C. Después de alcanzada ésta, el tratamiento se llevó a cabo durante 30 minutos. Se sacaron muestras a diferentes tiempos, antes y después de alcanzada la temperatura, y se determinó masa seca gravimétrica. A los sobrenadantes y los sólidos se le determinó ácidos nucleicos por el método de Rut⁴. A los sobrenadantes del tratamiento y a la levadura inicial se le determinó proteína por el método de Lowry⁵.

Los resultados fueron analizados estadísticamente para un 95% de confianza, aplicando el test "t de student" y test de "Ficher"⁶.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Fig. 1 muestra el porcentaje de pérdidas de biomasa con el tiempo a las diferentes temperaturas estudiadas. En todos los casos, la suspensión tardó 15 minutos en alcanzar la temperatura fijada. Durante este tiempo de precalentamiento, para el rango de temperaturas entre 45 y 50°C, las pérdidas de biomasa se incrementan lentamente con el tiempo. A medida que aumenta la temperatura de incubación se observa un salto brusco en los primeros 5 minutos de precalentamiento, y después este aumento es un poco más lento. Una vez alcanzada la temperatura de incubación, no hay diferencias significativas con un 95% de confianza en cuanto al porcentaje de pérdidas de biomasa a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, excepto para 45°C, donde se observa un ligero incremento con el tiempo.

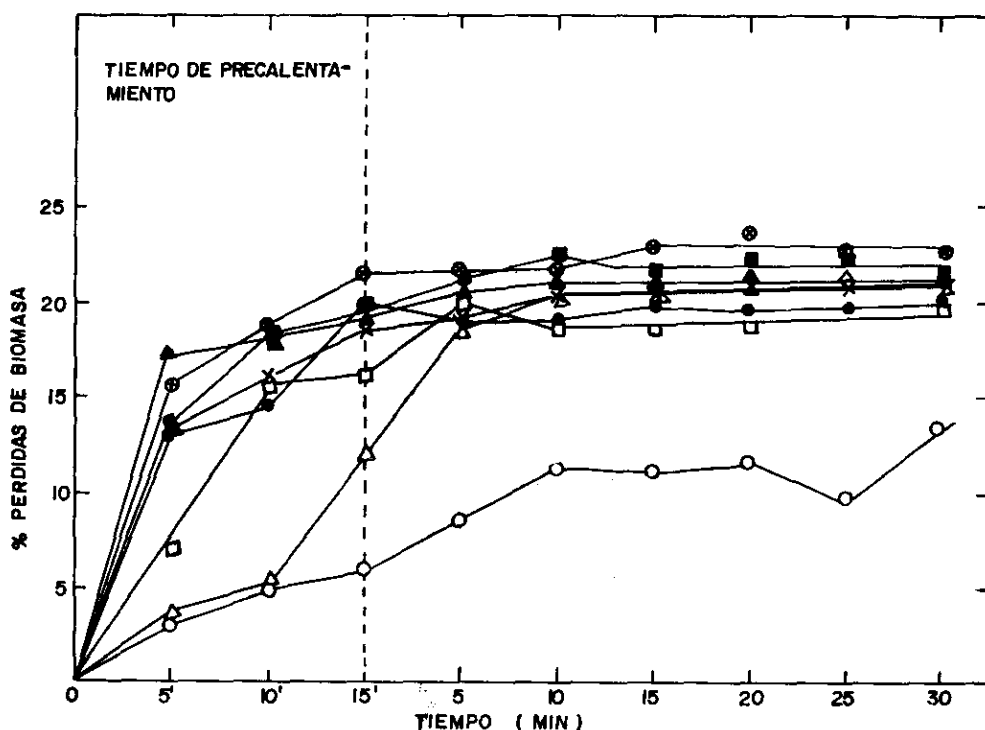


Fig. 1. % de pérdidas de biomasa con el tiempo de tratamiento empleando hidróxido de amonio 5% en base seca de lavadura, a diferentes temperaturas de incubación.

○ —45°C □ —55°C ● —65°C ■ —75°C
 △ —50°C × —60°C ▲ —70°C ⊗ —80°C

Por otra parte, es de notar que al final del tratamiento, no existen diferencias significativas en el porcentaje de pérdidas de biomasa para temperaturas por encima de 50°C, oscilando este valor entre 20 y 22%.

En la Fig. 2 se observa el % de reducción de ácidos nucleicos durante el proceso, en base a los análisis de los sólidos. Durante el tiempo de precalentamiento, a medida que aumenta la temperatura de incubación los cambios en el % de reducción de ácidos nucleicos son más bruscos con el aumento del tiempo, obteniéndose mayores reducciones a temperaturas más altas. A 45°C no se reducen los ácidos nucleicos durante todo el proceso.

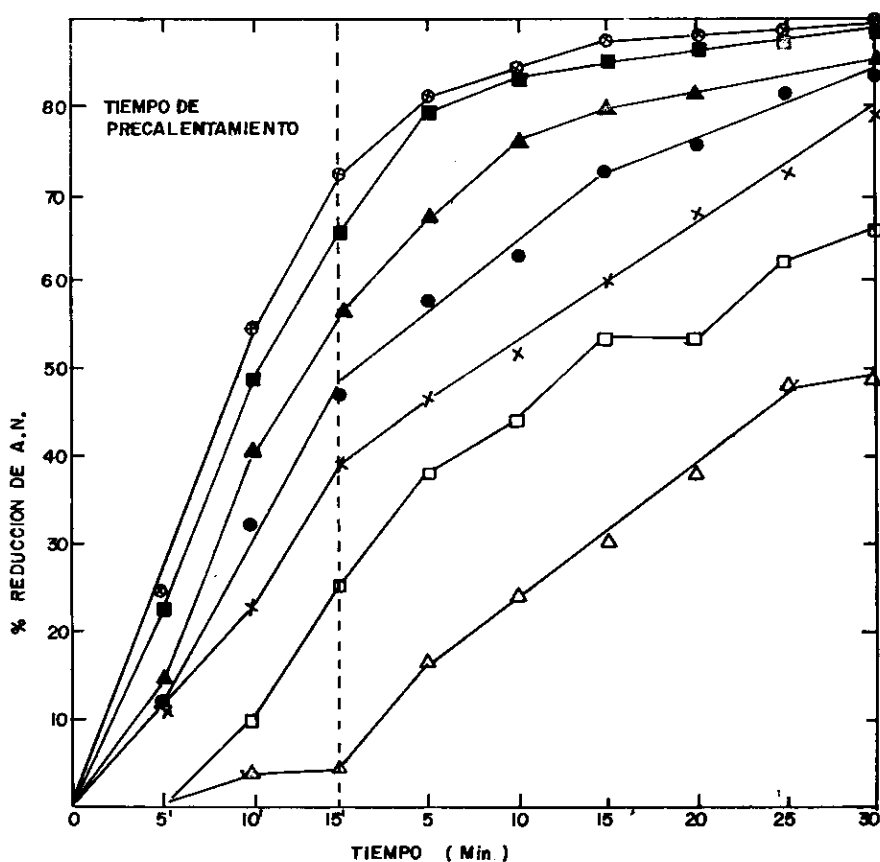


Fig. 2. % de reducción de ácidos nucleicos en base al sólido con el tiempo de tratamiento empleando hidróxido de amonio 5% en base seca de levadura, a diferentes temperaturas de incubación.



Una vez alcanzada la temperatura de incubación, observamos que a medida que transcurre el tiempo de tratamiento, aumenta la reducción de los ácidos nucleicos. A partir de 65°C, observamos que el aumento en el % de reducción de ácidos nucleicos es más lento con el tiempo de tratamiento. Entre 65-80°C, estos valores oscilan entre 85-89% de reducción, lo que equivale a un producto final con un contenido en ácidos nucleicos menor del 2%.

Resultados similares a los anteriores, se obtienen analizando el contenido de ácidos nucleicos liberados al sobrenadante, como se muestra en la Fig. 3. A 45°C en los sobrenadantes se aprecia una pequeña cantidad de nucleótidos liberados, alrededor del 5%, lo cual es despreciable con respecto a los otros tratamientos.

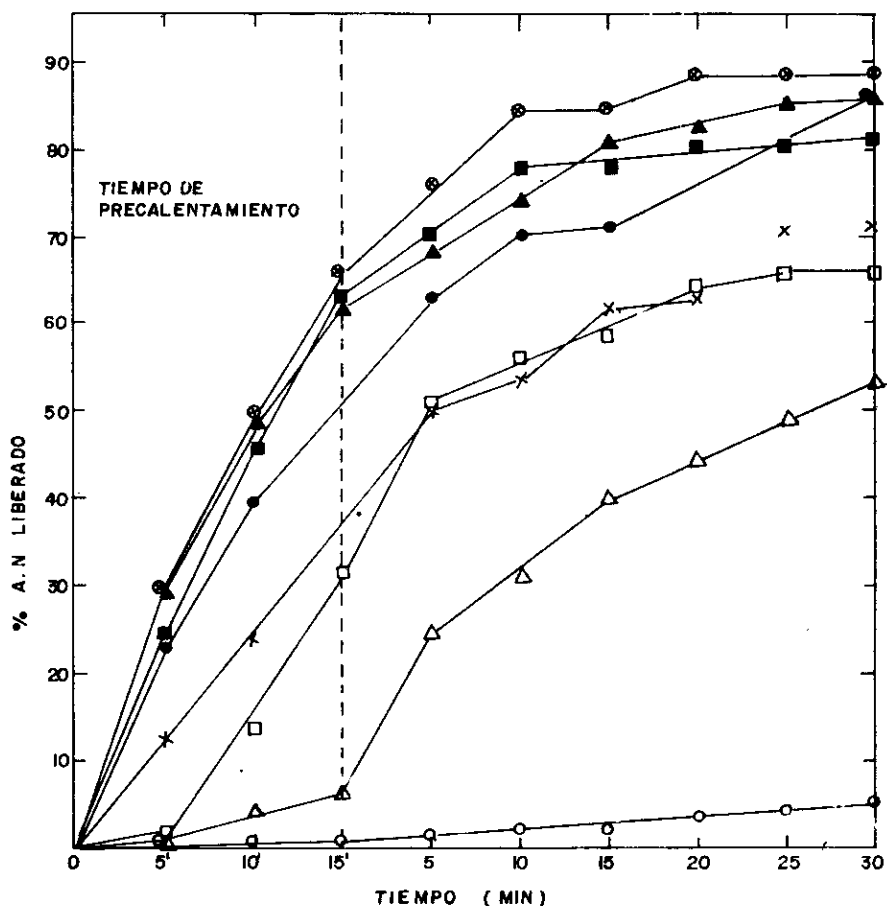


Fig. 3. % de ácidos nucleicos liberados al sobrenadante con el tiempo de tratamiento empleando hidróxido de amonio 5% en base seca de levadura, a diferentes temperaturas de incubación.



La Fig. 4 presenta el % de pérdidas de proteínas durante el proceso de tratamiento. Como vemos en la misma, en el período de precalentamiento, en el rango de temperaturas entre 60-80°C, el % de pérdidas de proteína aumenta bruscamente con el aumento del tiempo. A 45°C se obtienen las menores pérdidas de proteína, aproximadamente 2.5%, pero como vimos en las figuras anteriores no se obtiene ninguna reducción del contenido de ácidos nucleicos. Entre 50 y 55°C, se obtiene un ligero aumento en las pérdidas de proteína, alrededor del 11%, resultados similares fueron reportados anteriormente⁷, para una mayor concentración de hidróxido.

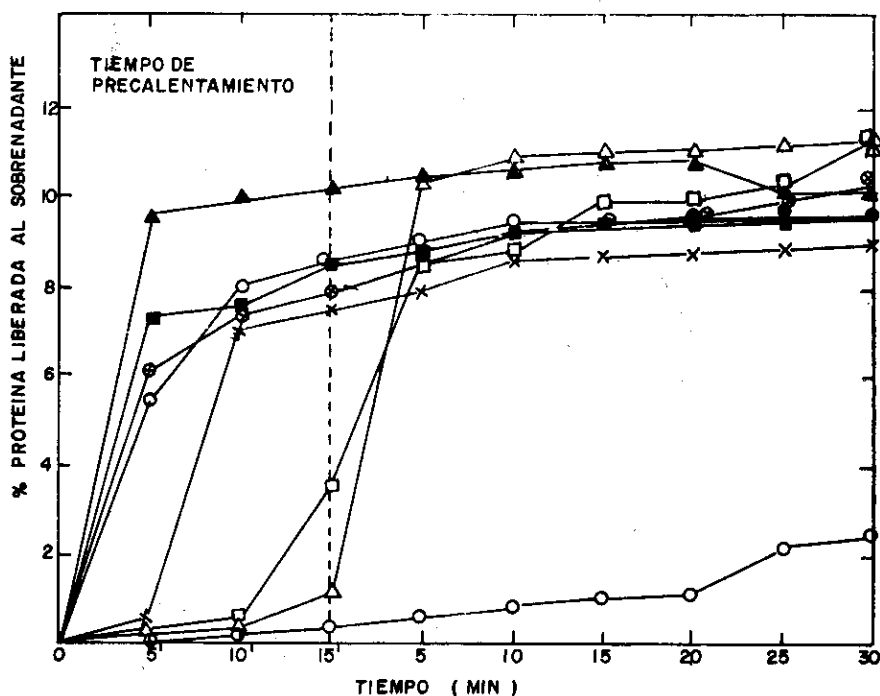


Fig. 4. % de proteína liberada al sobrenadante con el tiempo de tratamiento empleando hidróxido de amonio 5% en base seca de levadura, a diferentes temperaturas de incubación.

○ — 45°C	□ — 55°C	● — 65°C	■ — 75°C
△ — 50°C	× — 60°C	▲ — 70°C	⊗ — 80°C

La Fig. 5 muestra la influencia de la temperatura de incubación sobre el % de reducción de ácidos nucleicos y el porcentaje de pérdidas de biomasa y proteína, al final de la fase de precalentamiento. Como se observa, entre 60 — 80°C, el aumento en el porcentaje de reducción de ácidos nucleicos es casi lineal con el aumento de la temperatura de incubación.

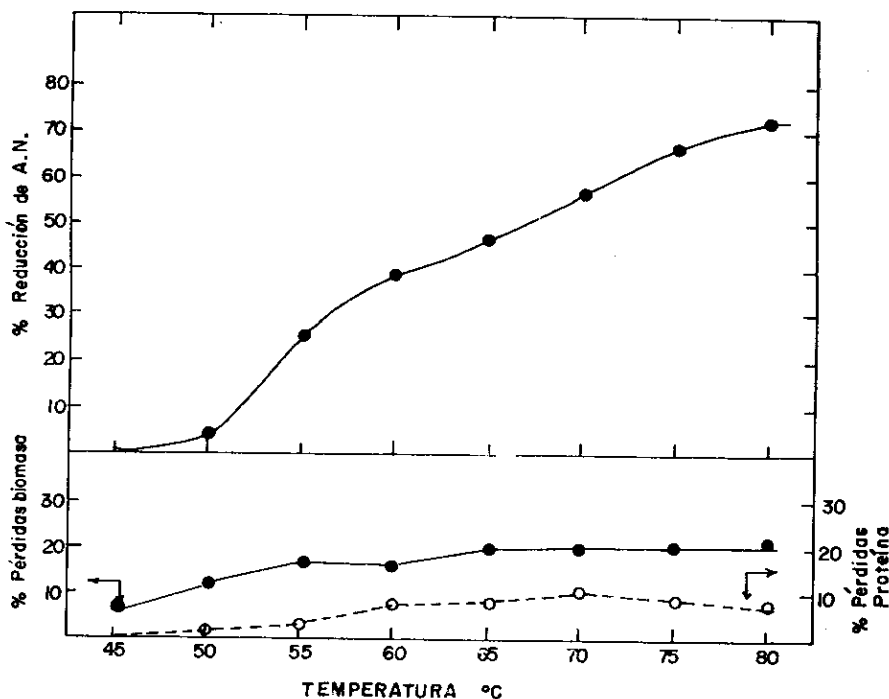


Fig. 5. % de reducción de ácidos nucleicos, % de pérdidas de proteína y % de pérdidas de biomasa al final de los 15 minutos de precalentamiento, a diferentes temperaturas de incubación.

Es de señalar que a temperaturas de incubación entre 75 — 80°C, se obtienen porcentos de reducción al final de la fase de precalentamiento de 66% y 72%, respectivamente.

En cuanto al porcentaje de pérdidas de biomasa, tenemos que entre 45 — 55°C, estas aumentan al aumentar la temperatura, permaneciendo aproximadamente constantes para el resto de las temperaturas estudiadas,

La proteína liberada al sobrenadante aumenta con el aumento de la temperatura, hasta 70°C, observándose después un pequeño descenso. Entendemos que esta pequeña variación es debida al error experimental.

En la Fig. 6 observamos que al final de los 30 minutos de calentamiento a la temperatura de incubación, el porciento de reducción de ácidos nucleicos aumenta apreciablemente con el aumento de la temperatura, especialmente entre 45-60°C, variando desde 0 a 79%. Sin embargo, con mayores incrementos de temperatura, y porciento de reducción aumenta mucho más lentamente, variando desde 79% a 89%.

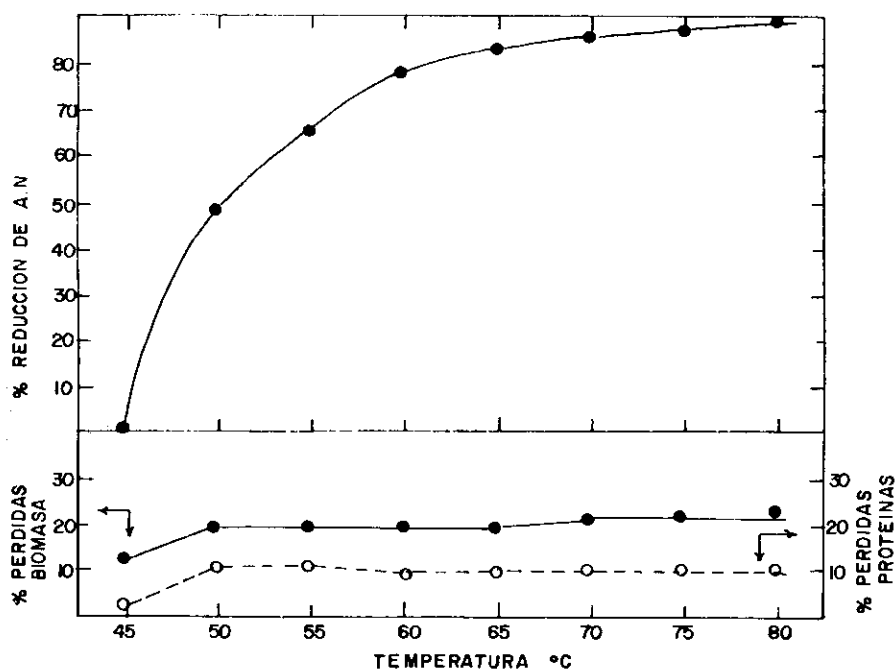


Fig. 6. % de reducción de ácidos nucleicos, % de pérdidas de proteína y % de pérdidas de biomasa al final de los 30 minutos de calentamiento, a diferentes temperaturas de incubación.

En cuanto al porciento de pérdidas de biomasa, se observa un incremento con la temperatura de 45-50°C. Para el resto de las temperaturas estudiadas, las pérdidas de biomasa se mantienen aproximadamente cons-

tantes. Las pérdidas de proteína con la variación de la temperatura de incubación, presentan un comportamiento similar al descrito anteriormente.

De los resultados expuestos entendemos que no es necesario elevar la temperatura más de 65°C, ya que si bien es cierto que las pérdidas de biomasa y proteína no aumentan con el incremento de la temperatura, la reducción de los ácidos nucleicos sólo se ve incrementada ligeramente de 83,2% a 65°C hasta 89,4% a 80°C. Además, en ambos casos se obtiene un producto con un contenido final de ácidos nucleicos menor del 2%, y aumentar la temperatura implicaría un mayor gasto de energía y por tanto aumento en los costos del producto.

Bajo nuestras condiciones de laboratorio, a 65°C durante 30 minutos se obtiene un producto final con un contenido de ácidos nucleicos de 1,30%, teniendo durante el proceso pérdidas de biomasa y proteína de 19,9% y 10,1%, respectivamente. Resultados similares en cuanto al porcentaje de pérdidas de biomasa y proteína hemos reportado con anterioridad⁷, utilizando una concentración mayor de hidróxido de amonio, (6,5% en base seca de levadura), por lo que es altamente ventajoso obtener un producto aceptable en cuanto al contenido de ácidos nucleicos, utilizando menor cantidad de hidróxido.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos podemos concluir lo siguiente:

Con temperaturas menores de 50°C no se observan reducciones de los ácidos nucleicos durante el proceso.

La liberación de los ácidos nucleicos al medio aumenta con el incremento de la temperatura y a medida que transcurre el tiempo de tratamiento. En el rango de 65 a 80°C, los incrementos con el tiempo se hacen mucho más lentos como se observa en las Figs. 2 y 3.

No hay diferencias significativas en cuanto al porcentaje de pérdidas de biomasa para una misma temperatura a lo largo del tiempo de incubación, excepto para 45°C. Además, al final del tratamiento térmico no existen diferencias significativas en el porcentaje de pérdidas entre 50 y 80°C, oscilando el mismo entre 20 y 22%.

Las pérdidas de proteínas durante el tratamiento, alcanzan su mayor valor entre 50 y 55°C.

Empleando una concentración de hidróxido de amonio de aproximadamente 5% en base seca de levadura, a 65°C durante 30 minutos, se obtiene un producto final con un contenido de ácidos nucleicos de aproximadamente 1,30%. Las pérdidas de biomasa y proteína durante el proceso son de 19,9% y 10,1%, respectivamente.

REFERENCIAS

1. VETTERLEIN G. Y KAURUFF W. Tendencia de desarrollo en la obtención de proteína microbiana y las exigencias en el equipamiento que ella requiere. Conferencia en el V coloquio de Tecnología de Alimentos de la Escuela Superior de Köthem, Octubre de 1977.
2. WASLIWN C. I., CALLOWAY D. H., MARGEN S. AND COSTA F. *J. of Food Sci.* 23, 294, 1970.
3. EDOZIEN J. C., UDO V. R. AND SCRIMSHAW N. S. *Nature* 228, 180, 1970.
4. RUT M. *Kvasný Prymst.*, 19, 131, 1973.
5. LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. AND RANDALL R. J. *J. Biol. Chem.* 193, 265, 1951.
6. SPIEGEL M. R. Teoría y problemas de Estadística. Ed. Pueblo y Revolución, 1977.
7. ALVAREZ R., AGUSTÍN J. A. Y HALAMA D. *Revista de Ciencias Biológicas*, 13, 37, 1982.