

## AISLAMIENTO DE PROTEÍNAS MONOCELULARES DE LEVADURA DE CERVEZA (*Saccharomyces carlsbergensis*)

LIDIA CRUZ NEYRA,  
MIRIAN MOURA, VINICIUS DA COSTA,  
RENATA DUARTE, DAG MENDONÇA, ROSMERI NASCENTES,  
MARTHA RODRÍGUEZ, VLADIMIRO SGARBIERI Y DEPAN-FEA,

Universidade de Campinas, Sao Pablo. C. Postal 6121, CEP 13083970, Campinas, SP, Brasil

### RESUMEN

Aislados y concentrados proteicos fueron obtenidos de células de levadura de cerveza *S. carlsbergensis*, mediante rompimiento mecánico de la pared celular, succinilación y precipitación isoeléctrica. Las suspensiones de Células con Pared Celular Desintegrada, Concentrado Proteico Succinilado y Aislado Proteico Succinilado, fueron liofilizadas y caracterizadas química y nutricionalmente; determinándose 40.31, 36.62 y 54.11 g % de proteína respectivamente. El grado de succinilación, determinada por la cantidad de lisina disponible, fue superior al 90% con una reducción de 5.89 para 4.71g % de ácidos nucleicos en el concentrado proteico.

Las propiedades nutricionales fueron evaluadas en ratas machos albinas, con 20 días de edad, divididas en cuatro grupos, siendo uno Control, alimentado con dieta de caseína al 10 %, y los otros tres grupos alimentados con una dieta conteniendo proteína de levadura, durante diez días.

El aislado proteico presentó una mejor digestibilidad aparente (90.55 %); mientras que la dieta conteniendo proteínas de células desintegradas demostró valores mayores para el balance de nitrógeno, el valor biológico aparente, la utilización líquida aparente, 923 mg, 77.30 g % y 66.98 g % respectivamente.

Palabras claves: Proteínas monocelulares, *S. carlsbergensis*, succinilación, aislado proteico, extracción química, evaluación nutricional.

### SUMMARY

#### ISOLATION OF SINGLE CELL PROTEIN FROM BREWER'S YEAST *Saccharomyces carlsbergensis*.

Protein isolate and concentrate were obtained from disrupted yeast cells *S. carlsbergensis* by succinylation after to isoelectric precipitation. Chemical and nutritional characterization from disrupted yeast cells, succinylated protein concentrate and succinylated protein isolate liophilized, with 40.31, 36.62, 54.11 g % protein respectively were done. The extent of succinylation of yeast protein was above of 90 % with a reduction from 5.89 to 4.71 g % of nucleic acids for protein isolate.

Nutritional evaluation was done in 28 male albino rats, twenty days old at the star and divided into four groups; one of group control fed 10 % casein and three groups with diets yeast protein, during ten days.

Protein isolate showed an increase of apparent digestibility (90.55 %). Protein from disrupted yeast cells, however, showed increased values for nitrogen balance, apparent biological value and apparent net protein utilization, 923 mg, 77.30 % and 66.98 % respectively.

Key-words: Single-cell protein, *S. carlsbergensis*, succinylation, isolate protein, chemistry extration, nutritional values.

### 1- INTRODUCCIÓN

La necesidad mundial de alimentos proteicos de alta calidad y su producción por la agricultura convencional son temas de importantes investigaciones para encontrar alternativas de solución al problema alimentario. Así los microorganismos, como las algas, bacteria, hongos y levaduras representa una fuente potencial de proteínas no convencionales. Particularmente las levaduras como *Saccharomyces* y *Candida* son las especies más estudiadas por su uso en la industria y en la preparación de alimentos. Las levaduras contienen de 40 a 50% de proteínas en materia seca, carbohidratos de 20 a 35%, siendo los glicanos, manosas y algunas quitinas, los principales carbohidratos de la pared celular (COONEY et al. 1980).

Las levaduras presentan un porcentaje de lípidos que varía de 2 a 7 % y minerales de 5 a 10%, además son buena

fuente de vitaminas del complejo B, excepto B<sub>12</sub> y en cuanto a la composición de aminoácidos, presentan deficiencias en los sulfurados (KINSELLA 1987), pero son ricos en lisina y treonina, por eso son excelentes suplementos para los cereales, (SARWAR et al. 1985). Por otro lado las levaduras pueden crecer en medios con pH bajo (4.5 a 5.5) y así minimizar la contaminación por bacterias (KIHLBERG, 1972).

Dos problemas significativos están asociados con la preparación, utilización y consumo de levaduras, en pri

mer lugar, su alto contenido de ácido nucleicos, principalmente RNA, con un valor de 8 a 25 g % en la materia seca, (SINSKEY & TANNENBAUM, 1975). Como el ser humano carece de uricemia y consecuentemente el consumo de proteínas con alto valor de RNA podría resultar en uricemia, cálculos renales, y gota (CLIFFORD et al. 1976, HEAF & DAVIES, 1976; por tanto no debe ingerir más de 2 g de ácidos nucleicos por día (SINSKEY & TANNENBAUM, 1975).

Un segundo problema es la pared celular, la cual es indigerible, de manera que reduce la biodisponibilidad de las proteínas y puede contener antígenos, agentes alergénicos y factores que causan náuseas y disturbios gastrointestinales (YOUNG & SCRIMSHAW, 1975). La pared celular de levaduras puede ser destruida por autólisis, hidrólisis enzimática, por tratamiento ácido y alcalino o por desintegración mecánica (DUNNILL & LILLY, 1975; TSANG et al, 1979).

Los ácidos nucleicos pueden ser eliminados por tratamiento alcalino (VANANUVAT & KINSELLA, 1975), pero alteran las propiedades funcionales de las proteínas; por hidrólisis enzimática, activando la ribonucleasa endógena o por el uso de reactivos químicos modificadores de los residuos aminoácidos de las proteínas, como la acetilación con anhídrido acético, succínico (SHETTY & KINSELLA, 1979b, 1980, 1982; FRANZEN & KINSELLA, 1976); la fosforilación (DAMODARAM & KINSELLA, 1984; HUANG & KINSELLA 1986) o por métodos de intercambio iónico (LEWIS et al. 1982).

El valor nutricional de proteínas de levaduras a través de la relación de eficacia proteica (PER) es cerca a 2.02 y puede ser aumentada a 2.3 por la adición de 0.5 % de metionina (BRESSANI, 1968).

El propósito de este trabajo fue evaluar química y nutricionalmente tres fracciones liofilizadas: células con pared celular destruida, concentrado proteico y aislado proteico de la levadura de cerveza *Saccharomyces carlsbergensis*.

## 2- MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Rompimiento de la pared celular de *Saccharomyces carlsbergensis*.

Se preparó una suspensión de células de la levadura *Saccharomyces carlsbergensis*, desamargada, obsequiada por la industria cervecera de la región de Campinas - São Paulo, Brasil. La suspensión de células, con 40 % de materia húmeda, que correspondió a 8 % de la masa seca (ASSIS et al. 1993), fue sometida a rompimiento celular usando un Dynomill, siguiendo la técnica descrita por DAMODARAM & KINSELLA 1984, a temperatura de 3 a 5 ° C. Parte de este material fue liofilizado y luego evaluado química y nutricionalmente.

### 2.2 - Extracción de proteínas

El procedimiento para la extracción de proteínas fue el

propuesto por SHETTY & KINSELLA, 1979b, siguiendo el flujograma de la FIGURA N° 1. La suspensión de células de levadura con rompimiento de pared celular fue ajustada a pH 8.5 con NaOH 3.5 N, y luego se adicionó anhídrido succínico, con agitación constante por 1 hora, manteniéndose el pH entre 8.0 - 8.5, mediante la adición de NaOH 6 N. Después de la estabilización del pH, la suspensión fue agitada por 30 minutos más y la fracción soluble fue separada por centrifugación (7 000 x G por 20 minutos) a 5 °C. El residuo fue descartado después de lavarlo con agua destilada. El pH del sobrenadante fue ajustado a 4.2 con HCl 6 N y nuevamente centrifugado, el precipitado obtenido fue ajustado a pH 7.0 - 7.5 y luego liofilizado, denominándose a esta fracción Aislado Proteico.

Para la obtención de la fracción liofilizada de Concentrado Proteico, el pH de la suspensión de levadura succinilada fue ajustado a 4.2 con HCl 6 N, dejando en reposo por 30 minutos a 4 °C. En seguida la suspensión fue centrifugada (7 000 x G por 20 minutos) a 5 °C. El precipitado fue neutralizado a pH 7.0 - 7.5 con NaOH 6 N.

Con la finalidad de evaluar el rendimiento de la extracción fueron determinados el valor proteico y los sólidos totales, de acuerdo con los procedimientos de la AOAC, 1980.

### 2.3 Caracterización química

Las determinaciones de humedad, lípidos, nitrógeno total y cenizas fueron analizadas de acuerdo a las técnicas descritas por la AOAC, 1980, en los tres liofilizados: Células de levadura con Pared Celular Desintegradas (CPCD), Concentrado Proteico (CP) y Aislado Proteico (AP). La proteína bruta fue calculada multiplicándose el nitrógeno total por el factor 5.5 para CPCD y CP. Para el caso del AP se multiplicó el nitrógeno total por el factor 6.25. El total de carbohidratos fue determinado por el método de DUBOIS et al, 1956 y posteriormente verificado por la diferencia porcentual.

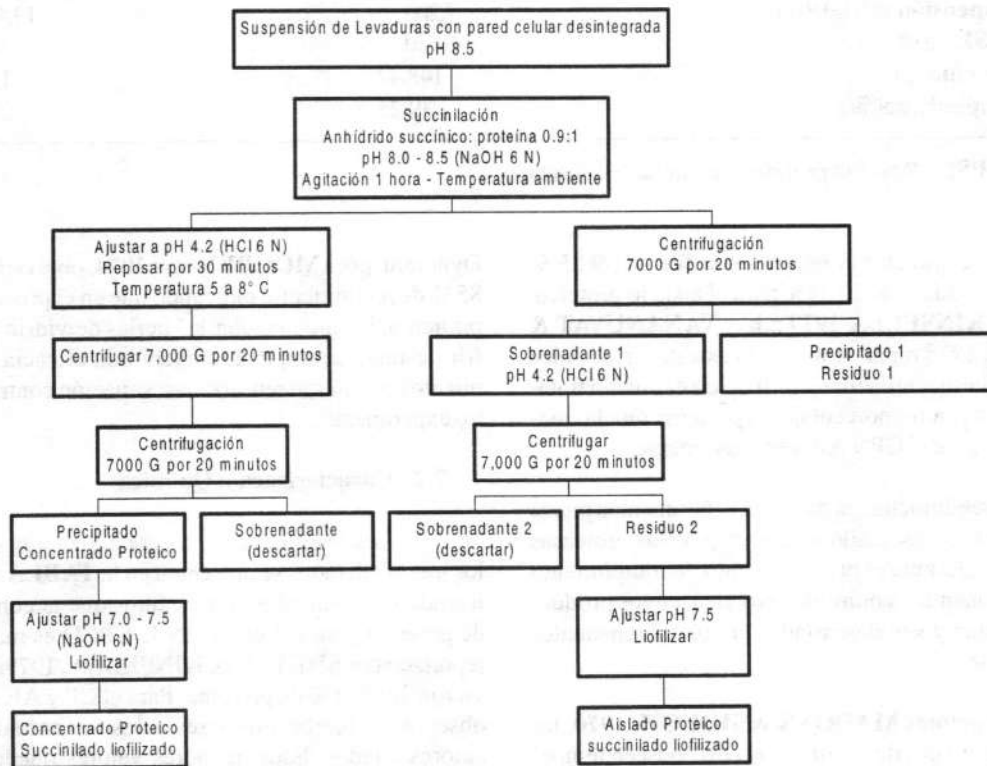
La extracción y determinación de lípidos totales fueron realizados por el método de BLIGH & DYER, 1959. El contenido de RNA fue determinado por el método modificado de PARISH, 1972, siendo determinado con el reactivo de orcinol con lecturas de densidad óptica a 670 nm.

El grado de succinilación fue determinada a través de la lisina disponible, por el método de KAKADE & LIENER, 1969. Para cuantificar la lisina se usó el coeficiente de extinción molar (de  $1.46 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 2.4 Ensayo biológico

Se utilizaron 28 ratas Wistar, machos con 20 días de edad, procedentes del bioterio central de UNICAMP, con un peso promedio de  $54.57 \pm 2.49$  g. Los animales fueron sometidos a cuatro dietas diferentes en cuanto a su fuente proteica, i) caseína (dieta control), ii) liofilizado de CPCD,

**Figura N° 1**  
**PROCESO BÁSICO DE EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DE**  
*Saccharomyces carlbergensis*



iii) liofilizado de CP y iv) liofilizado de AP, siendo distribuidas 4 ratas para el grupo control y 8 ratas para los otros tres grupos, ofreciéndose agua «ad-libitum».

La formulación de las dietas fue efectuada de acuerdo con la AIN, 1977, conteniendo 10 % de proteínas, 8% de lípidos (aceite vegetal), 3.5% de sales minerales (mezcla preparada de acuerdo con la AIN,1977), 1 % de vitaminas (mezcla vitamínica Roche, AIN 1973), 2% de fibra bruta y 75% de carbohidratos (75% de almidón y 25% de sacarosa).

Las ratas fueron sometidos inicialmente a un período de adaptación de tres días, seguidos de siete días de balance nitrogenado (BN). Este fue realizado en jaulas metabólicas, cuantificando el nitrógeno ingerido (NI), el nitrógeno excretado en las heces (NF) y en la orina (NU) (SGARBIERI,1987). A partir del balance nitrogenado fueron calculados los índices de Digestibilidad aparente (Da), Valor Biológico aparente (VBA) y utilización de proteína aparente (NPUa) (SGARBIERI, 1987).

### 2.5 Tratamiento Estadístico

Los datos del ensayo biológico fueron sometidos al análisis de varianza y al Test de Tukey, con nivel de 5 % de significancia.

## 3. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Proceso de Extracción

En la TABLA N° 1 se presentan los resultados del rendimiento proteico en los procesos de extracción. A partir de una suspensión de levaduras con pared y membrana celular desintegradas conteniendo 43.18 g % de proteínas por 100 gramos de materia seca fue sometida a tratamiento con anhídrido succínico para la obtención de CP y AP, utilizándose 7.2 y 13.4 litros de suspensión respectivamente; los cuales resultaron 420 y 308 g de materia seca liofilizada con un valor de proteína de 35.35 y 50.62 g % respectivamente.

**TABLA N°1**

Rendimiento de la Extracción Proteica

Fracción	Concentrado	Aislado
Suspensión inicial (ml)	7,200	13,400
RPSL (g) *	420	308
Proteína (g)	148.47	156.18
Rendimiento(%)	39.25	30.48

\* RPSL - Residuo proteico succinilado liofilizado

Como se puede apreciar el rendimiento fue de 39.25 % para el concentrado y de 30.48% para el aislado proteico. SHETTY & KINSELLA 1979 a,b y VANANUVAT & KINSELLA, 1978 reportaron que la extracción proteica aumenta con la succinilación y utilizando el mismo tratamiento obtuvieron un porcentaje de proteína mucho mayor, 62 y 84% para el CP y AP respectivamente.

El menor rendimiento en nuestros experimentos puede estar posiblemente asociado a la acción de las proteasas que se liberan durante el procesamiento de rompimiento celular, ocasionando la hidrólisis proteica, cuyos productos no precipitan y son descartados en los sobrenadantes de la extracción.

Según los autores MADDOX & HOUGH, 1970, las enzimas proteolíticas de *S. carlsbergensis* poseen temperatura óptima de actividad en el rango de 20° a 30° C. Durante el proceso de rompimiento celular fue observado una variación de temperatura de 4 a 18° C., lo que no está de acuerdo con HEDENSKOG & MOGREN, 1973 y MOGREN et al, 1974, que indican una temperatura óptima de extracción a 4 °C.

Otro factor importante en el rendimiento es la reutilización de las perlas de vidrio, que se usan en el

Dynomill, pues MOGREN et al 1974, obtuvieron cerca de 85 % de rendimiento, indicando que en el proceso de rompimiento de pared celular las perlas de vidrio pueden sufrir desintegración, disminuyendo la eficacia del rompimiento cuando son reutilizadas; situación contraria a nuestro experimento.

### 3.2 Caracterización Química

Los resultados de la caracterización química de los tres liofilizados se presentan en la TABLA N° 2. Analizando los resultados, verificamos que la concentración de proteína para el liofilizado de CPCD es mayor que lo reportado por SHETTY & KINSELLA, 1979a que obtuvieron 36.90 g % de proteína. Para el CP y AP, los valores observados fueron inferiores a los encontrados por los autores citados. Estos menores valores pueden ser atribuidos, probablemente, a la proteólisis ocurrida durante el proceso de extracción

SITOHY et al, 1992 demostraron que es necesario hacer una diálisis exhaustiva contra agua destilada para remover impurezas, el exceso de reactivos y sales formadas durante el proceso. Acción que no fue realizada en nuestro experimento.

La concentración de lípidos en los tres liofilizados va

**TABLA N° 2**

Caracterización química de *Saccharomyces carlsbergensis* antes y después del tratamiento con anhídrido succínico (material seco)

Concentración (g/%)	Células Desintegradas CPCD	Concentrado proteico CP	Aislado Proteico AP
Minerales	7.20	7.75	6.41
Lípidos	4.52	6.29	3.90
Proteínas	47.31	36.62	54.11
Carbohidratos	40.97	49.34	35.58
Acidos nucleicos	15.89	4.71	5.41
Lisina disponible *	7.27	0.31	0.48

\* Lisina disponible expresada en g/100g de proteína

rían entre 3 y 5% y están de acuerdo con los trabajos de VANANUVAT & KINSELLA, 1978; SHETTY & KINSELLA 1979 a e KINSELLA, 1987.

El contenido de cenizas representó 7.20, 7.75 y 6.41 g% en la materia seca del liofilizado de CPCD, CP y AP respectivamente, valores que superan a los encontrados por VANANUVAT & KINSELLA, 1978 que relataron 1.4 g % de cenizas para el CP usando una proporción de 1:04 (proteína/anhídrido succínico g/g); mientras que KINSELLA, 1987 encontró 1.7 g % para el AP utilizando una proporción de 1:0.9. Estos valores aumentados, posiblemente sean debido a que las células con rompimiento de pared tuvieron inicialmente un valor elevado de cenizas. KIHLEBERG, 1972 reportó que la cantidad de cenizas depende del medio de cultivo de las levaduras. RUMSEY et al, 1991 observaron un valor de 5.1 g% para la masa de levaduras con ruptura celular.

La concentración de carbohidratos fueron 40.97, 49.34 y 35.58 g % para los biofilizados de células desintegradas, Concentrado y Aislado proteico respectivamente, valores mayores de aquellos observados por SHETTY & KINSELLA, 1979 a y KINSELLA, 1987. Estos resultados están asociados al bajo rendimiento de extracción proteica. El valor más alto de carbohidrato fue en el CP, posiblemente al mayor contenido de pared celular.

Con relación al contenido de los ácidos nucleicos, el liofilizado de células rotas presentó 15.89 g de RNA, este alto valor está asociado con su crecimiento, (KIHLEBERG, 1972; SARWAR et 1985). No obstante, los valores para el CP y AP fueron 4,71 y 5,41 g % de RNA respectivamente, siendo los valores mayores que los relatados por HEDENSKOG & MOGREN, 1973, SHETTY & KINSELLA, 1979 a,b, 1980 y VANANUVAT &

KINSELLA 1978, que encontraron valores inferiores a 2 g de ácidos nucleicos.

SHETTY & KINSELLA, 1979a, trabajando con anhídrido succínico en la extracción proteica encontraron que valores de pH menores de 4.2 pueden causar una precipitación de ácidos nucleicos junto con las proteínas. Especulamos que los elevados valores de RNA encontrados fueron debido a la variación de pH (3.6 - 4.2) usados en la succinilación.

Como puede ser visto en la TABLA N° 2 el grado de extensión de succinilación determinada a través de lisina disponible fue más del 90 % para los CP y AP, significando que los grupos - NH<sub>2</sub> estuvieron succinilados. Estos resultados concuerdan con los valores relatados por SHETTY & KINSELLA, 1979b que usaron la proporción de 1:0.9 (proteína/ anhídrido succínico g/g).

### 3.3 - Ensayo Biológico

En la TABLA N° 3, se presenta el análisis de las dietas conteniendo proteínas de levadura. La dieta preparada con los liofilizados de CPCD presentó una mayor concentración de ácidos nucleicos y una mayor disponibilidad de lisina cuando es comparada con las dietas de CP y AP.

Los GRÁFICOS N° 1 y N° 2 muestran los resultados de la variación de la ingesta proteica y la ganancia de peso, respectivamente. Comparando los gráficos 1 y 2 se puede observar que con el transcurrir del tiempo hubo ganancia de peso como consecuencia del aumento de la ingesta proteica.

TABLA N° 3

Análisis de las Dietas

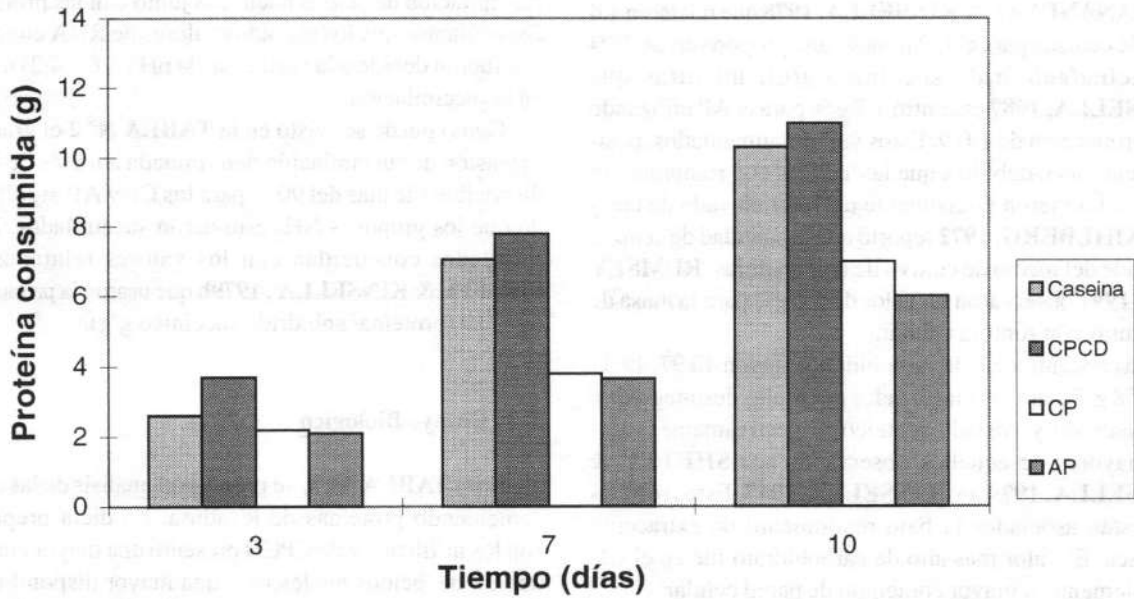
Dietas	Proteínas (g%)	Ácidos nucleicos (g%)	Lisina disponible (g%)
Células Desintegradas (CPCD)	10.30	3.46	0.480
Concentrado Proteico (CP)	9.57	1.27	0.031
Aislado Proteico (AP)	9.50	0.95	0.042
Caseína (Control)	9.80	0.00	0.590

De acuerdo con las normas y estándares de nutrición animal (ANDRIGUETTO, 1979), la ingesta media diaria de *Rattus rattus* Wistar es de 10 a 15 g. En los experimentos, con las dietas CPCD y Control, el consumo proteico fue de 11.25 e 10.35 g/ 10 días respectivamente, lo que concuerda con lo esperado. El mismo resultado no ocurrió con las dietas de CP y AP, las cuales tuvieron un consumo de 6.76 y 5.94 g / 10 días respectivamente.

Posiblemente el menor consumo de las dietas preparadas con CP y AP ocurrió por baja aceptabilidad en función del proceso de succinilación. El hecho de no haber sido dializados estos liofilizados resultaron con una mayor concentración de sales ocasionando la no apetencia en los animales.

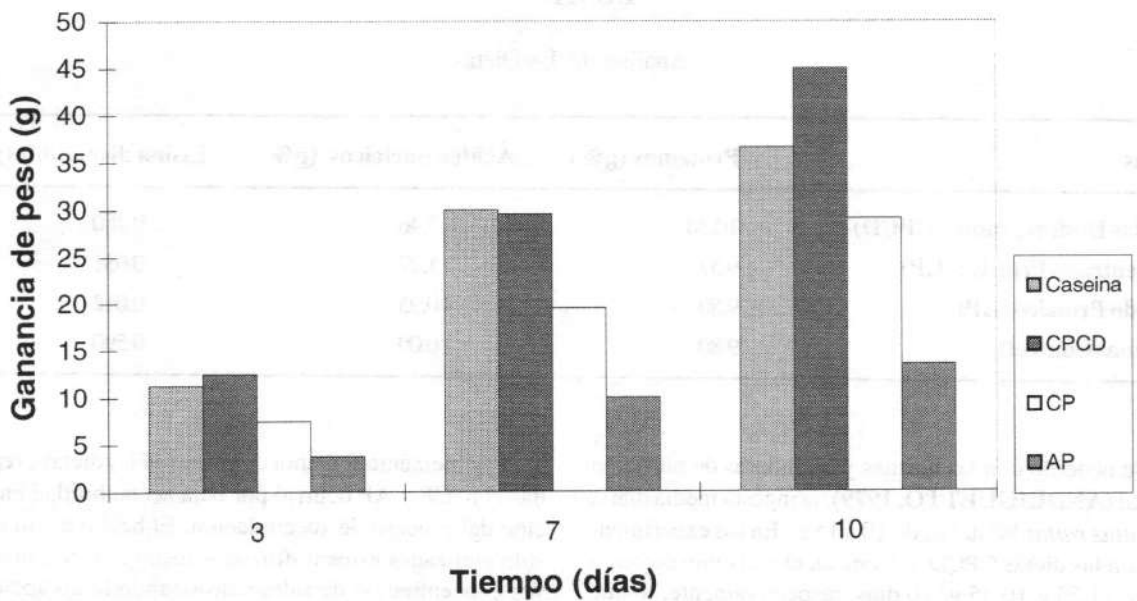
En el gráfica N° 2 se puede observar que hubo una mayor ganancia de peso para los grupos CPCD y el Con-

**Gráfico N° 1**  
**Consumo de Proteína en Función del Tiempo**



Células desintegradas (CPCD), Concentrado Proteico (CP), Aislado Proteico (AP)

**Gráfico N° 2**  
**Ganancia de peso en Función del Tiempo**



Células desintegradas (CPCD), Concentrado Proteico (CP), Aislado Proteico (AP)

trol, lo mismo que fue observado por **BAKER et al. 1970** que indicaron un crecimiento diario de 5 a 6 g para ratas jóvenes pesando entre 50 y 60 g, una proporción, cercana al 10 % de su peso corporal.

En relación al Balance Nitrogenado (BN) no fueron constatadas las diferencias significativas entre las dietas experimentales y el control, a pesar, de los mayores valores de NU y NF encontrados para las ratas tratados con las dietas de CPCD, CP y AP. El BN fue positivo debido a que las ratas se encontraron en fase de crecimiento, probablemente por presentar buena retención del nitrógeno proteico.

La Digestibilidad aparente (Da) fue de 81.26% a 90.55 % para las dietas experimentales, estos resultados están de acuerdo con lo reportado por **KIHLBERG, 1972; SCRIMSHAW, 1975 e MARIATH & ZUCAS, 1983.**

**RUMSEY et al. 1991**, estudiando la digestibilidad de la dieta AP en truchas tuvieron un valor de 87.5 %, datos próximos a nuestros resultados.

En la **TABLA N° 4** se presenta los resultados obtenidos en el ensayo biológico, donde podemos verificar que existe un menor valor significativo ( $p < 0.05$ ) para nitrógeno ingerido (NI) en el grupo con dieta de AP, con respecto al grupo Control, resultado explicado por ser la dieta AP de menor aceptabilidad. En cuanto al nitrógeno fecal (NF) observamos que los valores más elevados corresponden al grupo con dietas CPCD y CP en comparación con la dieta control. Esta pérdida de nitrógeno puede estar asociada a una mayor concentración de pared celular en el concentrado proteico.

Por otro lado, el menor valor de NF puede ser observado para AP como consecuencia de la menor cantidad de pared celular, así como una menor ingesta. Estos resultados están de acuerdo a lo reportado por **MARIATH & ZUCAS, 1983.**

Podemos observar que los mayores valores de nitrógeno urinario (NU) corresponden a las dietas de CP y AP, indicando una menor retención del nitrógeno absorbido, probablemente por la baja disponibilidad de lisina. Ambas dietas difieren significativamente ( $p < 0.05$ ) con la dieta Control, pero no tienen diferencia entre ellas.

**TABLA N° 4**

Valores de nitrógeno ingerido (NI), nitrógeno fecal (NF), nitrógeno urinario (NU), balance de nitrógeno (BN), digestibilidad aparente (Da), valor biológico aparente (VBa) y utilización líquida aparente de proteína (NPUa) obtenidos en siete días de balance nitrogenada

GRUPO	NI mg	NF mg	NU mg	BN mg	Da %	VBa %	NPUa %
CONTROL	1259.80a	121.50bc	172.2b	973.00a	90.38a	84.79 a	76.62a
CPCD	1414.40a	249.50a	242.60b	923.60 a	81.26b	77.30ab	66.98ab
CP	1252.60a	172.60b	453.70a	626.30a	86.29ab	57.99c	50.00d
A P	1079.9b	106.30cd	322.70a	650.90a	90.55a	67.16bc	60.78bc
Media ± desvío estándar	1250.52± 16.98	168.24± 23.72	297.80± 10.98	733.25± 33.44	86.66± 4.81	69.93± 12.13	61.75± 12.17

Medias situadas en la misma columna con letras diferentes difieren entre sí. (Test de Tukey a  $p < 0.05$ ). Células desintegradas (CPCD), Concentrado Proteico (CP), Aislado Proteico (AP).

El Valor Biológico aparente (VBa) de las dietas de CP y AP presentaron diferencias significativas cuando comparadas con la dieta control ( $p < 0.05$ ); mientras que la dieta de CPCD no difiere con el control, podemos justificar que esto es debido a la biodisponibilidad de lisina. **BJARNASON & CARPENTER, 1977** relataron que el crecimiento de ratas alimentadas con proteínas acetiladas (en  $-NH_2$  lisina) fue parecido con aquel obtenido en ratas alimentadas con dietas deficientes de lisina.

Debido al corto período de tratamiento no se observó ningún efecto aparente por consumo de RNA, como fue observado por **TAMAI et al. 1975.**

**HERNANDEZ et 1985**, reportaron que los productos que alcanzan valores biológicos nutricionales tan elevados como la caseína son muy escasos, por eso se debe considerar la posibilidad de incluir en el consumo de alimentos para animales a las proteínas de la levadura *S.carlsbergensis*.

Las mismas observaciones hechas para VBa son válidas para los datos de utilización líquida aparente (NPUa). **SCHULZ & OSLAGE, 1976** señalaron que los animales experimentales que tienen un valor biológico satisfactorio de proteínas están entre 61 % y 80 %; siendo que nuestros valores verifican lo reportado por estos autores.

El valor NPUa que consiste en medir el porcentaje de NI que fue retenido en el organismo se presenta con valores de 60.68 % a 66.98 %, semejantes a los obtenidos por SCHULZ & OSLAGE, 1976 e MARIATH & ZUCAS, 1983.

A pesar de haber obtenido cerca del 90% de -NH<sub>2</sub> succinilada se obtuvo un bajo rendimiento de extracción proteica. Esto posiblemente, por el elevado grado de

proteólisis, durante el rompimiento celular, y la no realización de la diálisis para retirar el exceso de sales, formadas durante el proceso de succinilación

El uso de levaduras para consumo humano dependerá del tratamiento específicos, referentes a la disminución del contenido de ácidos nucleicos y de la remoción de sustancias indeseables, asegurando la aceptabilidad y su inocuidad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. C. - Official methods of analysis 13 ed. **Association of official agricultural chemists** Washington, D.C., 1980.

AIN. Report of the Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for nutritional studies. **Journal of Nutrition**, California, v. 107, n. 7, p. 1340 - 1348, July, 1977.

ANDRIGUETTO, J. M; GEMAEL, A. De SOUZA, A.; MINARDIETALO, F. S.; LUIMAR, P.; FLEMMIG, R. **Normas e padrões de nutrição e alimentação animal**. ed. Nutrição e Publicitária LTDA, Curitiba, p. 111-116, 1979.

ASSIS, E.M.et al. **Ruptura mecânica como processo de recuperação de componentes celulares de levaduras. III Mostra Interna de Trabalhos Científicos FEA/UNICAMP**, Campinas, 1993.

BAKER, H. J.; LINDSEY, J. R.; WEISBROTH, S. H. **The laboratory rat**, New York, Academic press, v. 1 p. 11 e 158, 1970.

BJARNASON, J.& CARPENTER, K.J. Mechanism of heat damage in proteins.I. Model with acylated lysine units. **British Journal Nutrition**, Cambridge, v. 23, p. 859-869.1977.

BLIGH, E.G. & DYER, E.J. A Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.8,p. 911-917, Aug 1959.

BRESSANI, R. The Use of Yeast in Human Foods. **In Single cell Protein** (R.I. Mateles & S.R.Tannenbaum, eds.) p. 90, MIT Press, Cambridge.1968

CLIFFORD, A.J., RIUMALLD, J.A., YOUNG, V.R. & SCRIMSHAW, N.S. Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty human. California, **Journal of Nutrition**, v.106, p. 428, 1976. COONEY, C.L.; RHA, C.; TANNENBAUM, S.R.. Single cell protein: Engineering, economics and utilization in foods. **Advances in Food Research**, New York, v. 26, p. 1 - 49, 1980.

DAMODARAN, Srinivasan & KINSELLA, John E. Dissociation of yeast nucleoprotein complexes by chemical phosphorylation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 32, n. 5, p. 1030 - 1032, Sep/ Out., 1984.

DAMODARAN, Srinivasan & KINSELLA, John E. The use of chaotropic salts for separation of ribonucleic acids and proteins from yeast nucleoproteins. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 25, n. 3, p. 761 - 770, Mar. 1983.

DUNNILL, P, & LILLY, M.D. Protein extraction and recovery from microbial cells. In **Single Cell Protein II**. Ed. S.R. Tannenbaum & D.I.C. Wang, MIT Press, Cambridge.p. 179. 1975.

DUBOIS ET AL. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Easton, v. 28, n. 3, p. 350 -356. Mar. 1956.



- FRANZEN, Kay L; KINSELLA, John E. Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 24, n. 4, p. 788 - 795, July - August, 1976.
- GROOT, A. P. & SLUMP, P. Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutrition value. **J. Nutrition**, Califonia, v. 98, p. 45-56, may/ aug., 1969.
- HEAF, D.F. DAVIES, J.I. The effect of RNA supplementation of rat diets on the composition of body fluids. **B. Journal Nutrition**, v.36,n.3, p. 381 - 402, November. 1976.
- HEDENSKOG, Gudmund & MOGREN, Hakan. Some methods for processing of single cell protein. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 15, n.1, p. 129 - 142 January, 1973.
- HERNANDEZ, F., URBAY, C.M. & ILLNAIT, J. Estudio nutricional de la levadura. *Saccharomyces carlsbergensis* en ratas. *Revista de Ciencias biológicas*, v.16, p.203 - 205. 1985.
- HUANG, Y.T. & KINSELLA, J.E. Phosphorilation of yeast protein: reduction of ribonucleic acid and isolation of yeast protein concentrate. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 28, n.11, p. 1690 - 1698, Nov. 1986.
- KAKADE, M.K. & LIENER, Irvin. Determination of available lysine in proteins. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 27, n. 2, p. 273 - 280, 1969.
- KIHLBERG, Reinhold. The microbe as a source of food, 1972. **Annual Review of Microbiology**. Palo Alto 26: 427 - 85 - 1972.
- KINSELLA, J.E. & SHETTY, k.j. Yeast proteins: recovery nutritional and functional properties. In *Nutritional improvements in food and feed proteins*. Ed. M. Friedman. New York, p. 797-825. 1978.
- KINSELLA, John E. Functional proteins from yeast nucleoprotein for food uses: methods for isolation. *in Methods for isolation Food Biotechnology*. ed. Dietrich Knorr, New York, . p. 363 - 391, 1987.
- LEWIS, P.N. & LAW FORD, H.G.; Kligerman, A. Lawford, G.R. A novel method for reducing the RNA contents of single cell: Protein isolates. **Biotechnology Letters**, England, v. 4, n.7, p. 441 - 446, July, 1982.
- MADDOX, I.S. & HOUGH, J.S. Proteolytic enzymes of *S. carlsbergensis*. **Biochemistry Journal**, London, v. 117, p. 843 - 852, 1970.
- MARIATH, J. G. R.; ZUCAS, S. M. Valor nutricional da proteína isolada do resíduo de cerveja. **Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação**, São Paulo, n. 65, 24 - 36, mar/abr., 1983.
- MOGREN, H. et al. Mechanical disintegration of microorganismos in an industrial homogenizer. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.16, n.1, p.261 - 274, January. 1974.
- PARISH, J. H. Principles and practices of experiments with nucleic acids, London, p. 172 ed Longaman, 1972
- RUMSEY, G.L. et al. Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 33, n. 3, p. 185 - 193, Jun. 1991.
- SARWAR, G., et al. Nucleic acid, fiber and nutrient composition of inactive dried food yeast products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n.2, p. 353 - 357, March-April, 1985.
- SCHULZ, E.; OSLAGE, H.J. Composition and nutritive value of single-cell protein (SCP). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 1, n.1, p. 9 - 24, 1976.
- SCRIMSHAW, N. S. Single- cell protein for human consumption - AN overview. *In: Single - Cell protein II* (Tannemaum, S. R. and, D. I. C. Wang, eds.), M. I. T. Press, Cambridge, p.24-45, 1975.
- SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. Campinas: UNICAMP/ALMED, 1987. p. 243 - 261.
- SHETTY, J. K. & KINSELLA, J.E. Isolation of yeast protein with reduced nucleic acid level using reversible acylation reagents: some properties of the isolated protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 30, n.6, p. 1166 - 1171, November-December. 1982.
- SHETTY, J. K. & KINSELLA, J.E. Novel method for the reduction of nucleic acid in yeast protein. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 21, n. 2, p. 329 - 332, feb. 1979 a.
- SHETTY, J. K. & KINSELLA, J.E. Preparation of yeast protein isolate with low nucleic acid by succinylation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, n. 3, p. 633 - 638, May/June. 1979.b
- SHETTY, J.K. KINSELLA, J.E. Ready separation of protein from nucleoprotein complexes by reversible modification of lysine residues. **Biochemistry Journal**, London, v. 191, n.1, p. 269-272, October. 1980.

SINSKEY, A.S & TANNENBAUM. Removal of nucleic acids in SCP, in **Single Cell Protein II**, eds: S.R. Tannenbaum & D.I.C. Wang, Cambridge, MIT Press, p. 158, 1975.

SITOHY, M.Z.; SHAROBEEEM, S.F; ABDEL-GHANY.

Functional properties of some succinilated protein preparations. *Acta Alimentaria*, Budapest, v. 21, n. 1, p.31-38. 1992.

TAJIMA, M. & YOSHIKAWA, S. Changes of nucleic acid in the preparation process of cell protein isolates from yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). **Agriculture and Biological Chemistry**, Tokio, v.9, n.3, p. 611 - 616, March, 1975.

TAMAI, Y; NAKASHIMA, T; MASAYOSHI, T; MISAKIA, A. Antigenicities and cell envelope preparation from Baker's yeast. **Agric. Biol. Chem.** v.44, n.1, p.49-53, Tokio, 1980.

TSANG, S.; LEE, C.; RHA, C. K. Desintegration of cell wall and extraction of protein from candida lipolytica. **J. Food Sci**; Chicago, 44 (1); 97-9, 1979).

VANANUVAT, P.KINSELLA J.E. Some functional properties of protein isolates from yeast, *Saccharomyces fragilis*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.23, n.4, p. 613-616, Jul/Aug. 1975.

YOUNG, V. R. & SCRIMSHAW, N.S. Clinical studies on the nutritive value of single cell proteins. In *Single Cell Proteins II*. p. 566, MIT press, Cambridge. 1975.