

POTENCIAL SENSORIAL Y BIOFUNCIONAL DE EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE LEVADURAS RESIDUALES DE CERVECERÍA UTILIZADAS EN LA ELABORACIÓN DE DIFERENTES ESTILOS DE CERVEZA

Prono, Haziel¹

¹Instituto de Tecnología de Alimentos, FIQ - UNL
Directora: Garzón, Antonela
Codirector: Cian, Raúl

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Residuos de levadura, Propiedades Bioactivas, Propiedades sensoriales

INTRODUCCIÓN

El residuo de levaduras es el segundo subproducto de la industria cervecera. El mismo se genera cuando la biomasa de levaduras usada en las fermentaciones ya no es útil y debe desecharse. Teniendo en cuenta su composición química, este subproducto resulta de gran interés para obtener extractos con propiedades tecno- y bio-funcionales. Al respecto, se ha reportado que los extractos de levaduras residuales pueden ser usados como saborizantes naturales; y recientemente, se ha estudiado el potencial bio-funcional de dichos extractos para ser usados en la formulación de alimentos funcionales. Por otro lado, los residuos de levadura obtenidos pueden provenir de diferentes estilos de cerveza, como cervezas estilo belga, American Pale Ale, entre otros. Sin embargo, hasta la fecha no se han encontrado estudios que evalúen el impacto del estilo de cerveza sobre las propiedades sensoriales y bioactivas de dichos extractos.

OBJETIVOS

1) Obtener extractos de levadura a partir de subproductos cerveceros de tres estilos diferentes de cerveza; 2) Evaluar las propiedades sensoriales de los extractos obtenidos; 3) Evaluar las propiedades bioactivas de los extractos obtenidos.

Título del proyecto: Aprovechamiento del residuo de levaduras cerveceras para la obtención de un extracto natural con propiedades bioactivas y con potencial saborizante en quesos veganos
Instrumento: PICT 2021 0742
Año convocatoria: 2021
Organismo financiador: Agencia Nacional de promoción Científica y Técnica
Directora: Garzón, Antonela



METODOLOGÍA

Las levaduras residuales del proceso de elaboración de cerveza de estilos American Pale Ale (APA), Golden y Pilsen fueron proporcionadas por una cervecería artesanal de la ciudad de Santa Fe. Para la obtención de los extractos de levadura se llevó a cabo un proceso de autólisis con condiciones de tiempo y temperatura optimizado previamente por el grupo de trabajo. Finalizada la autólisis, las enzimas endógenas fueron inactivadas por tratamiento térmico, y la obtención de los compuestos solubles se realizó por centrifugación, obteniéndose tres extractos: E1 (APA), E2 (Golden), y E3 (Pilsen). A los mismos se les determinó el contenido de sólidos, proteínas y cenizas según metodología de la AOAC (2000). Además, se evaluó el contenido de nucleótidos según Vieira y col. (2016), se determinó el contenido de manosa, glucosa y fructosa libre y ligada, empleando un kit de Megazyme, se determinó el contenido de aminos libres según Nielsen y col. (2001), el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) utilizando la metodología de Folin-Ciocalteu (Schanderl, 1970), el perfil de aminoácidos proteicos y libres por HPLC, y se evaluó el perfil de pesos moleculares de péptidos por FPLC utilizando una columna Superdex 30 Increase 10/300 GL (rango de separación 100-7000 Da). En cuanto a las propiedades bioactivas, se determinaron: la actividad antihipertensiva mediante la capacidad de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) (Cian y col., 2015); las actividades antioxidantes (capacidad quelante del Cu, capacidad quelante asociada al blanqueamiento del β -caroteno, poder reductor mediante el poder antioxidante por reducción del hierro (FRAP) e inhibición de los radicales libres 2, 2'-Azinobis-3-etil-benzo-tiazolina-6-ácidosulfónico (ABTS+) y 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Cian y col., 2015); las propiedades neuroprotectoras a través de la inhibición de las enzimas acetil-colinesterasa (ACEh), tirosinasa y prolyl oligopeptidasa (POP) (Spontón y col., 2016; Ge y col., 2023; Chanajon y col., 2022); y la actividad hipoglucemiante a través de la inhibición de las enzimas dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y α -glucosidasa (Garzón y col., 2022). Por último, se estudió el perfil sensorial, mediante un Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA por sus siglas en inglés) con un panel entrenado compuesto por 13 evaluadores, a través de una escala hedónica de 1 (baja intensidad) a 9 (alta intensidad). Se evaluaron características de apariencia (color rojizo), aroma (a levadura), flavour (umami, amargo, pungente, residual). Tanto las propiedades bioactivas como el perfil sensorial fueron evaluados igualando la concentración de sólidos en los tres extractos. Se realizó el test de ANOVA para determinar diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$) y el test de Duncan para comparación de a pares al 95% de confianza, utilizando el Software Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS/CONCLUSIONES

No se observaron diferencias en el contenido de sólidos y proteínas entre los tres extractos (5,4 g sólidos/100 mL y 40 g proteína/100 g b.s.), pero hubo diferencias en todos los otros compuestos químicos evaluados. En este sentido, se obtuvo un mayor contenido de cenizas en E2 comparado con los otros dos extractos (11,4 vs. 9,9 g cenizas/100 g b.s.). En cuanto al contenido de ácido nucleico, los extractos presentaron diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$), en el orden $E1 < E2 < E3$, siendo estos valores de $1,8 \pm 0,0$, $2,1 \pm 0,1$, y $2,3 \pm 0,1$ g/L, respectivamente. Por otra parte, al evaluar el contenido de azúcares, se observó que E1 presentó un mayor contenido de glucosa y manosa ligada ($5,8 \pm 0,1$ y $0,8 \pm 0,0$ g/L, respectivamente), indicando posiblemente una

mayor presencia de péptidos glicosilados en este extracto. E3 presentó el mayor contenido de azúcares libres, siendo los valores de glucosa, fructosa y manosa: $3,3 \pm 0,0$, $0,7 \pm 0,0$ y $0,8 \pm 0,0$ g/L, respectivamente. Con respecto al perfil de aminoácidos proteicos, los tres extractos presentaron un alto contenido de Asp, Glu, Ala y Leu. E1 presentó un mayor porcentaje de aminoácidos hidrofóbicos (54%), mientras que E2 y E3 mostraron un mayor porcentaje de aminoácidos básicos ($\approx 13\%$), principalmente debido a un mayor contenido de Lys. Adicionalmente, el contenido total de aminos libres de E2 y E3 fue 75% mayor que el hallado para E1 (230 vs. 176 mEq L-serina/L). Sin embargo, al analizar el perfil de aminoácidos libres por HPLC y teniendo en cuenta aquel que puede aportar un mayor sabor umami, el contenido de Glu en E1 fue un 40% mayor al obtenido para los demás extractos. E1 presentó el mayor contenido del ácido γ -aminobutírico (GABA) ($7,5 \pm 0,0$ mg/g sólidos), pero el menor contenido de taurina entre los extractos. Por otro lado, E1 exhibió un mayor contenido de CFT que E2 y E3 (10% más), siendo dicho valor $1424,7 \pm 4,0$ mg ácido gálico/100 g sólidos. Esto podría estar asociado a la mayor cantidad de lúpulo que llevan las cervezas APA, viéndose incrementada la proporción de compuestos fenólicos adsorbidos en la levadura residual. En cuanto al perfil obtenido mediante FPLC, los tres extractos mostraron fracciones peptídicas en un rango de PM entre 250-1500 Da, lo que indica la presencia de péptidos de bajo PM. Además, si bien el perfil peptídico fue similar, E2 y E3 presentaron una mayor proporción de péptidos con PM cercano a 600 Da, mientras que E1 exhibió una mayor proporción de di y tripéptidos (400 y 250 Da). En la **Tabla 1** se observan los resultados obtenidos de actividad antioxidante, antihipertensiva e hipoglucemiante. Es necesario destacar que ninguno de los tres extractos inhibió la enzima α -glucosidasa.

Tabla 1. Propiedades antioxidantes (capacidad quelante, CQ; poder reductor, FRAP; inhibición de radical ABTS; inhibición de radical DPPH, antihipertensivas (Inhibición de ECA-I) e hipoglucemiante (inhibición de la enzima DPP-IV).

	CQ (%)	FRAP (mM Trolox)	ABTS (mM Trolox)	DPPH (mg AA/mL)	ECA-I (%)	DPP-IV (%)
E1	45,9 \pm 2,5 ^b	3,6 \pm 0,3 ^c	26,9 \pm 1,5 ^c	0,5 \pm 0,0 ^c	66,4 \pm 1,2 ^c	40,5 \pm 0,6 ^a
E2	32,0 \pm 0,6 ^a	1,6 \pm 0,1 ^a	20,6 \pm 1,1 ^b	0,3 \pm 0,0 ^a	61,4 \pm 1,9 ^b	49,5 \pm 1,3 ^b
E3	31,3 \pm 1,1 ^a	2,5 \pm 0,1 ^b	17,5 \pm 0,7 ^a	0,4 \pm 0,0 ^b	56,4 \pm 0,9 ^a	63,6 \pm 0,4 ^c

AA: ácido ascórbico. Valores con diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para todos los métodos antioxidantes evaluados, E1 fue el que presentó mayor actividad, posiblemente asociado a su mayor contenido de CF. El mismo comportamiento se observó para la inhibición de ECA-I. Sin embargo, E3 presentó el mayor valor de inhibición de DPP-IV entre los extractos. Estas diferencias en la inhibición de DPP-IV pueden estar asociadas con la secuencia de los péptidos presentes en los extractos. Al respecto, el mayor contenido de Lys en E3 podría estar jugando un rol importante en la inhibición de esta enzima (Nongonierma y FitzGerald, 2017). Respecto a las propiedades neuroprotectoras, E1 presentó mayor inhibición de ACEh, tirosinasa y POP entre los extractos (**Figura 1A**). Esta mayor capacidad inhibidora de E1 frente a dichas enzimas podría deberse al elevado contenido de CF y péptidos hidrofóbicos de este extracto. Por otro lado, en la **Figura 2B** se muestran los resultados obtenidos a partir del QDA. Para casi la mayoría de los parámetros analizados, E2 fue el que presentó el menor puntaje. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre E1 y E3 para el sabor umami y amargo. Sin

embargo, E3 exhibió una mayor intensidad de color. La elevada intensidad de sabor umami en E1 podría estar asociada con el mayor contenido de Glu de dicho extracto, mientras que en E3, este sabor característico estaría vinculado con el mayor nivel de nucleótidos.

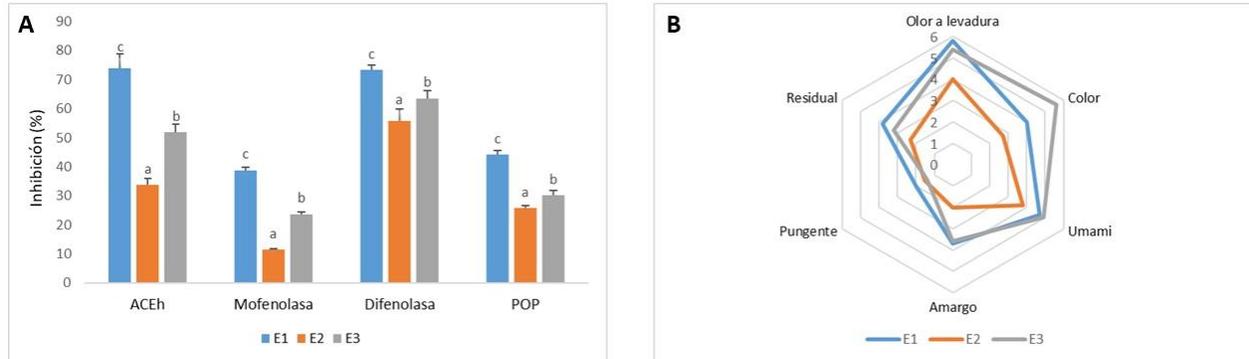


Figura 1. A. Propiedades neuroprotectoras. B. Perfil sensorial.

Como conclusión, es importante tener en cuenta el estilo de cerveza con el que se obtiene el residuo de levaduras, ya que las características bioactivas y sensoriales de los extractos pueden diferir. Cervezas lupuladas podrían aportar a los residuos de levadura y sus extractos mejores propiedades bioactivas.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- AOAC.** 2000 Official Methods of Analysis, 17th edn. Association of Official Analytical Chemists.
- Chanajon, P., Noisa, P., y Yongsawatdigul, J.** 2022. Prolyl oligopeptidase inhibition and celular antioxidant activities of a corn gluten meal hydrolysate. *Cereal Chemistry*, 99, 1183–1195.
- Cian, R.E., Vioque, J., y Drago, S.R.** 2015. Structure-mechanism relationship of antioxidant and ACE I inhibitory peptides from wheat gluten hydrolysate fractionated by pH. *Food Research International*, 69, 216–223.
- Garzón, A.G., Ferreira, M.R., Cian, R.E., Oliva, M.E., D’Alessandro, M.E., y Drago, S.R.** 2022. Microencapsulated bioactive peptides from brewer’s spent grain promotes antihypertensive and antidiabetogenic on a hypertensive and insulin-resistant rat model. *Journal of Food Biochemistry*, DOI: 10.1111/jfbc.14283
- Ge, Z., Liu, J., Sun, J., y Mao, X.** 2023. Tyrosinase Inhibitory Peptides from Enzyme Hydrolyzed Royal Jelly: Production, Separation. Identification and Docking Analysis. *Foods*, 12, 2240.
- Nielsen, P.; Petersen, D., y Dambmann, C.** 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66, 642-646.
- Nongonierma, A.B., y FitzGerald, R.J.** 2017. Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins. *Journal of Food Biochemistry*, e12451.
- Schanderl, S.** 1970. Tannins and related phenolics. In: Joslyn MA (ed) *Methods in food: analysis physical, chemical and instrumental methods of analysis* New York: Academic. p. 701-725.
- Sponton, P., Spinelli, R., Drago, S., Tonarelli, G., y Simonetta, A.** 2016. Acetylcholinesterase - inhibitor hydrolysates obtained from “in vitro” enzymatic hydrolysis of mannoproteins extracted from different strains of yeasts. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 300-308.
- Vieira, E.F., Carvalho, J., Pinto, E., Cunha, S., Almeida, A.A., y Ferreira I.** 2016. Nutritive value, antioxidant activity and phenolic compounds profile of brewer’s spent yeast extract, *Journal of Food Composition and Analysis*, 52, 44-51.