



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 286 826**

(51) Int. Cl.:

**C12N 1/18** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **97202293 .3**

(86) Fecha de presentación : **22.07.1997**

(87) Número de publicación de la solicitud: **0821057**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **28.01.1998**

(54) Título: **Levadura de panadería.**

(30) Prioridad: **26.07.1996 EP 96202119**

(73) Titular/es: **GBI Holding B.V.  
Burgemeestersrand 59  
2625 NV Delft, NL**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.12.2007**

(72) Inventor/es: **Plomp, Pieter Jan Arnoldus Maria**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.12.2007**

(74) Agente: **Durán Moya, Luis Alfonso**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Levadura de panadería.

5 La invención se refiere a la producción de levadura de panadería, en particular a una nueva composición de levadura y a un procedimiento de producción de un caldo de fermentación de levadura concentrado adecuado para su utilización como la nueva composición de levadura de panadería.

### **Descripción del estado de la técnica**

10 La práctica de la producción de levadura de panadería es bien conocida y se encuentra ampliamente documentada en la bibliografía. Buenos ejemplos de descripciones de la práctica de producción de levadura de panadería son, por ejemplo, Burrows, S. (1979) *Baker's yeast* (Levadura de panadería), *Economic microbiology*, vol. 4 (Rose, A.H. ed.), págs. 31-64; Academic Press, Nueva York; Reed G. (1982) *Production of bakers' yeast* (Producción de levadura de panadería), *Prescott & Dunn's industrial microbiology*, 4<sup>a</sup> ed. (Reed, G. ed.) págs. 593-633; AVI, Westport, CT.; Chen, S.L. y Chiger, M. (1985) *Production of baker's yeast* (Producción de levadura de panadería), *Comprehensive biotechnology*, vol. 3 (Blanch, H.W., Drew, S. y Wang, D.I.C eds.) págs. 429-461; Pergamon Press, Oxford; Trivedi, N.B., Jacobson, G.K. y Tesch, W. (1986) *Baker's yeast* (Levadura de panadería). *Crit. Rev. Biotechnol.* 4, 75-110; y Beudeker, R.F., Dam, H.W. van, Plaat, J.H. van der, y Vellenga, K. (1990) *Developments in Baker's yeast production* (Avances en la producción de levadura de panadería), *Yeast* (Verachtert, H y De Mot, R. eds.) págs. 103-146; Marcel Dekker Inc., Nueva York. A continuación, se proporcionará una atención adicional a aspectos específicos de la producción y de la utilización de la levadura de panadería que se pueden mejorar con la invención descrita en esta memoria descriptiva.

25 Después de la producción de la semilla de levadura en etapas múltiples (Chen, S.L. y Chiger, M. (1985) *Production of baker's yeast* (Producción de levadura de panadería), *Comprehensive biotechnology*, vol. 3 (Blanch, H.W., Drew, S. y Wang, D.I.C eds.) págs. 429-461; Pergamon Press, Oxford) sigue la producción de la denominada levadura comercial. En la práctica normal esto se hace en fermentaciones en discontinuo principalmente utilizando melazas como sustrato de C y amoníaco o urea como la fuente principal de nitrógeno. Los sustratos se alimentan al fermentador durante la fermentación. Otros requisitos de crecimiento como fosfato, parte del nitrógeno, sales y vitaminas, se añaden al fermentador al comienzo de la fermentación o justo en las primeras horas de fermentación. Las melazas también actúan como fuente de muchos oligoelementos, que se dosifican en cantidades suficientes o incluso en exceso mediante la alimentación de las melazas como fuente de carbono. La fermentación tarda entre 10 y 20 horas y concluye con un caldo que contiene entre 4 y 8% de sólidos de levadura seca.

30 35 Antes de que se pueda utilizar, la melaza necesita ser clarificada. Esto quiere decir que la melaza se diluye para reducir la viscosidad y para hacer que la melaza se pueda bombear, aunque también para permitir la eliminación de sedimentos (arena, suciedad, materia coloidal) antes de la esterilización y de la alimentación al fermentador.

40 45 Los programas de alimentación utilizados para la melaza y para la fuente de nitrógeno y, en cierta medida también, para los otros requisitos de crecimiento se consideran generalmente una información crucial y se publica poco acerca de los programas que realmente se utilizan en la práctica industrial. No obstante, está claro que los programas son de importancia primordial para la calidad de la levadura final obtenida. Como resulta evidente a partir de Burrows, S. (1979) *Baker's yeast* (Levadura de panadería), *Economic microbiology*, vol. 4 (Rose, A.H. ed.), págs. 31-64; Academic Press, Nueva York, y de un trabajo anterior de Drew, B. von, Specht, H. y Herbst, A.-M. (1962) *Zur Züchtung von Backhefe in konzentrierter Melassewürze*. Die Branntweinwirtschaft 102, 245-247, los perfiles de alimentación con alto contenido de melaza conducen a una levadura más activa y los perfiles de alimentación con bajo contenido de melaza conducen a una levadura menos activa que tiene una vida útil más larga. En la práctica actual, la velocidad de alimentación máxima está limitada, por un lado, por la velocidad de transferencia de oxígeno (OTR (oxygen transfer rate)) del fermentador y, por otro lado, por la velocidad de crecimiento crítico de la levadura, por encima de la cual comienza a tener lugar la formación de alcohol. La formación de alcohol es indeseable debido a la mala calidad de conservación resultante de la levadura y a la pérdida de rendimiento sobre la fuente de carbono. Al parecer, un perfil de alimentación con un contenido de melaza demasiado bajo en relación con la cantidad de levadura presente en el fermentador puede conducir a una producción de gas de la levadura demasiado baja. Así, en Sher, H.N. (1962) *Continuous process for the production of yeast* (Procedimiento continuo para la producción de levadura), patente U.S.A. 3032476, se declara que la velocidad de crecimiento de la levadura debería mantenerse por encima de 0,05 h<sup>-1</sup> y preferentemente incluso por encima de 0,075 h<sup>-1</sup>. Así, dado un porcentaje de inóculo adecuado económicamente, la velocidad de crecimiento mínima considerada necesaria para un buen rendimiento de producción de gas junto con la velocidad de alimentación máxima debida a las limitaciones de la velocidad de transferencia de oxígeno del fermentador, conforma la base para el tiempo de fermentación máximo de 20 h, tal como se indica por parte de Chen, S.L. y Chiger, M. (1985) *Production of baker's yeast* (Producción de levadura de panadería), *Comprehensive biotechnology*, vol. 3 (Blanch, H.W., Drew, S. y Wang, D.I.C eds.) págs. 429-461; Pergamon Press, Oxford.

50 55 60 65 Después de la fermentación, las células de levadura se lavan de forma concienzuda mediante concentración y dilución repetidas. Típicamente, se lleva a cabo una concentración mediante centrifugación hasta obtener una suspensión de aproximadamente el 20% de sólidos secos, y la suspensión se diluye al menos una vez hasta más del 100% del volumen original, lo que da como resultado una concentración de sólido que no es levadura en el líquido libre de menos del 10% de la concentración que existe en la fase de líquido libre del caldo de fermentación. Así, se obtiene una

# ES 2 286 826 T3

levadura en crema con una concentración de sólidos secos de levadura comprendida entre 18-22% que, bien se vende directamente como levadura en crema, o se procesa de forma adicional en bloques de levadura o en forma de levadura granulada (entre 25-36% de sólidos secos) o se seca para obtener levadura seca activa o levadura seca instantánea con hasta el 97% de sólidos secos de levadura. El agua extracelular eliminada del caldo de este modo asciende hasta

- 5 aproximadamente el 50% para la levadura en crema, hasta casi el 100% para la levadura desecada. Junto con el agua requerida para limpiar los sólidos no fermentados de la melaza, este agua forma una corriente de agua residual grande que necesita tratarse. En la actualidad, el tratamiento completo de aguas residuales incluye una planta de evaporación que concentra la corriente de agua residual y que produce vinaza. A expensas de una elevada aportación de energía, esta etapa elimina aproximadamente entre 80-95% de la demanda biológica de oxígeno (DBO) de la corriente de agua residual. La DBO restante se trata en una planta anaeróbica de tratamiento de agua residual y posteriormente en una planta aeróbica de tratamiento de agua residual, de nuevo con un coste considerable. Además, estos costes aumentarán en el futuro ya que la energía llegará a ser más cara y también porque las demandas para el tratamiento de corrientes residuales aumentarán debido a razones medioambientales.
- 10

- 15 El documento EP-A-0 229 976 describe cepas de levadura de acción rápida con un rendimiento mejorado en una masa dulce, normal y de bajo contenido graso. Las cepas de levadura se fermentan mediante procedimientos estándar utilizando melazas como fuentes de carbono.

## Características de la invención

- 20 La invención se refiere a la producción de levadura de panadería, en particular a una nueva composición de levadura y a un procedimiento de producción de un caldo de fermentación de levadura concentrado, adecuado para su utilización como la nueva composición de levadura de panadería.

- 25 De acuerdo con la invención, se describe un procedimiento de producción y una nueva composición de levadura de panadería para la producción de un caldo de fermentación de levadura concentrado, adecuado para su utilización como la nueva composición de levadura de panadería, que tiene un contenido de sólidos de levadura seca comprendido entre 10 y 22%, preferentemente entre 13 y 22%, más preferentemente entre 16%-22%, y una fase acuosa con los componentes de la fermentación constituida por componentes del medio y por metabolitos de la levadura. La composición de acuerdo con la invención es una composición de levadura de panadería que tiene un componente de fase de agua celular y extracelular, obtenible mediante un procedimiento que comprende: (a) el comienzo de la fermentación mediante la alimentación de semilla de levadura con una fuente de carbono que no sea melaza y con una fuente de nitrógeno y con otros nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura, y (b) la continuación de la fermentación hasta que el contenido de sólidos de levadura seca del caldo de fermentación comprende entre 10-22%, procedimiento en el que se controla la velocidad de alimentación de la fuente de carbono que no es melaza para evitar concentraciones de alcohol mayores del 1% durante la fermentación, comprendiendo la composición:
- 30
- 35

- levadura de panadería que tiene un contenido de sólidos de levadura seca comprendido entre 10 y 22%; y

- 40 - una fase extracelular que contiene metabolitos de la levadura y compuestos orgánicos y sales con una concentración de 0,2 osmol/kg o mayor.

Preferentemente, esto se logra mediante (a) el comienzo (por ejemplo mediante fermentación en discontinuo) de una fermentación mediante la alimentación de semillas de levadura con una fuente de carbono que no sea melaza y con una fuente de nitrógeno y con otros nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura, y (b) la continuación de la fermentación hasta que el contenido de sólidos de levadura seca del caldo de fermentación comprende entre 10-22%, y (c) la concentración de forma opcional del caldo comprende entre 16-22%, por ejemplo, mediante centrifugación y la utilización de la fase acuosa en la preparación de una fermentación ulterior.

## 50 Descripción detallada de la invención

El nuevo procedimiento para la fermentación y la producción de levadura de panadería a una escala industrial comienza con una semilla de levadura adecuada, cuya calidad y cantidad debería ser más o menos igual que la de la semilla de levadura utilizada de forma convencional. Así, en este sentido, no existen requisitos especiales. Preferentemente, el procedimiento de la invención se lleva a cabo a escala industrial. En la práctica, para la fermentación en discontinuo se utilizarán fermentadores de entre 50-300 m<sup>3</sup> o de columna de burbujas, o con agitación, bajo presión normal o aumentada, para obtener velocidades de transferencia de oxígeno adecuadas para suministrar oxígeno a la levadura que está creciendo. El procedimiento de la invención produce un caldo de fermentación concentrado en los fermentadores de levadura de panadería existentes, industriales, sin requerir capacidades de transferencia de oxígeno muy altas. Levadura de panadería significa una cepa de *S. cerevisiae* producida de forma comercial o industrial.

55 El crecimiento en el fermentador se mantiene mediante la alimentación de una fuente de carbono adecuada que no sea melaza (por ejemplo, glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, dextrinas, maltotriosa, rafinosa o alcohol o cualquier mezcla de los mismos) con una concentración lo suficientemente elevada de carbono presente en la alimentación. La concentración en la alimentación debería ser lo suficientemente elevada para obtener la concentración de sólidos de levadura seca requerida, teniendo en cuenta el volumen de partida requerido del fermentador. Típicamente, la concentración de azúcar en la alimentación será de 250 g/l o mayor, aunque para hacer más fácil su manipulación preferentemente comprenderá entre 400 y 600 g/l de azúcar.

## ES 2 286 826 T3

La fuente de nitrógeno puede ser cualquier fuente convencional de nitrógeno utilizada para la práctica normal de la producción de levadura de panadería, o cualquier fuente de C/N rica en proteínas hidrolizadas (por ejemplo, ácidos casamino, tryptón, pepton, harina de soja) o una combinación de las mismas. La dosis de N debería ser lo suficientemente elevada como para no ser limitante. La alimentación total de N consumible se puede determinar

5 en un balance elemental para obtener contenidos de proteínas (N Kjeldahl \* 6,25) comprendidos entre 40-60%. La concentración exacta es menos crítica que para la fuente de carbono. Normalmente será suficiente una disolución de amoníaco al 25% o cualquier otra fuente de nitrógeno equivalente en concentración de N, aunque se pueden utilizar otras concentraciones, preferentemente mayores.

10 De acuerdo con la práctica actual, se pueden utilizar fosfato y otros nutrientes como sales y vitaminas y otras sustancias de ayuda al procesado de calidad aptos para utilización alimentaria, tal como se describe en la bibliografía accesible, teniendo cuidado de no administrar una dosis excesiva de componentes.

15 Todos los nutrientes descritos anteriormente se añaden típicamente en forma de componentes relativamente puros tales como jarabes de azúcar, amoníaco, ácido fosfórico, etc., aunque también se pueden añadir en una forma menos pura con tal de que no contengan ningún componente que necesite eliminarse mediante lavado, a fin de hacer que la levadura obtenida sea adecuada para la utilización en comestibles o en alimentación. Los componentes se pueden combinar de una forma que favorezca la composición del metabolito de la fase acuosa del caldo de fermentación en lo que respecta al sabor y al aroma del producto.

20 La alimentación al fermentador se inicia después de la adición de la semilla de levadura. Como mínimo a la fermentación se alimentan las fuentes de carbono y de nitrógeno, excepto una pequeña parte que se puede suministrar de forma discontinua al comienzo de la fermentación. Los otros nutrientes, como la fuente de fosfato, sales y vitaminas, también se pueden alimentar al fermentador, o bien en parte o completamente. La alimentación de estos componentes, 25 por separado o mezclados con la fuente de carbono y/o de nitrógeno tiene la ventaja de que se evitan concentraciones muy elevadas al comienzo de la fermentación. No obstante, es posible añadir estos nutrientes al comienzo de la fermentación, especialmente cuando las fuentes de carbono y de nitrógeno tienen una concentración elevada, permitiendo así un volumen de partida del fermentador relativamente grande.

30 El programa de alimentación para la fuente de carbono es tal que la velocidad de alimentación de partida se adapta a la velocidad a la que la semilla de levadura puede comenzar el crecimiento (más convenientemente expresada en forma de velocidad de crecimiento) y, a continuación, aumenta hasta que se alcanza la velocidad de alimentación máxima para la fuente de carbono. Esta velocidad de alimentación máxima para la fuente de carbono está determinada, por un lado, por la velocidad máxima de transferencia de oxígeno del fermentador y, por otro lado, por la velocidad de crecimiento crítico de la levadura, por encima de la cual comienza a tener lugar la formación de alcohol. Claramente 35 cuando la última es limitante la velocidad de alimentación, se puede aumentar todavía de forma exponencial debido al crecimiento de la levadura, hasta que la velocidad de transferencia de oxígeno del fermentador llega a ser limitante. El control de la velocidad de alimentación debería ser lo bastante estrecho como para evitar concentraciones de alcohol mayores del 1% y preferentemente la concentración de alcohol debería permanecer por debajo del 0,5%. Cerca del 40 final de la fermentación, la velocidad de alimentación se puede reducir por debajo del valor máximo, a efectos de permitir el consumo del sustrato de C y de C/N escasamente fermentable o para permitir el consumo del alcohol. La velocidad de alimentación se puede detener completamente durante algún periodo al final de la fermentación, a efectos de reducir el número de yemas (maduración de la levadura).

45 La alimentación de nitrógeno se puede programar de cualquier forma conveniente, por ejemplo, para minimizar la utilización de productos químicos para el control del pH, con tal de que el nitrógeno no llegue a ser limitante para el crecimiento de la biomasa. Al igual que en el caso de la sobrealimentación del sustrato de carbono, la infraalimentación de la fuente de nitrógeno conducirá a la formación excesiva de alcohol. La forma más fácil de poder evitar esto es mediante la alimentación de la fuente de nitrógeno de forma proporcional a la fuente de carbono o alimentando una 50 cantidad mayor, especialmente en las fases tempranas de la fermentación. De forma alternativa, parte del nitrógeno se puede añadir antes de la siembra. La alimentación de nitrógeno se detiene cuando se alimenta al fermentador la cantidad total de nitrógeno requerida, la cual se puede calcular fácilmente a partir del balance de N durante la fermentación. Se puede decir lo mismo para los programas de alimentación de otros nutrientes tales como fosfato, sales y vitaminas, si estos no se añaden antes de la siembra.

55 La temperatura se mantiene entre 20 y 45°C, preferentemente entre 25 y 36°C. El pH se mantiene entre pH 3 y 8, preferentemente entre pH 4 y 7, por ejemplo, pH 5,5.

60 La fermentación se mantiene hasta que se alcanza la concentración requerida de materia seca, que es el 10%, más preferentemente el 13%, de sólidos de levadura seca o mayor, preferentemente el 16% de sólidos de levadura seca o mayor. Con las velocidades de alimentación utilizadas, esto toma un tiempo de fermentación típicamente de más de 20 horas, y más típicamente se requerirá un tiempo de fermentación comprendido entre 30-50 horas. Las velocidades de crecimiento específico al final de la fermentación típicamente disminuyen por debajo de  $0,05 \text{ h}^{-1}$  durante un periodo prolongado de 5 horas como mínimo.

65 Despues de la fermentación, el caldo concentrado se transfiere a un tanque de almacenamiento y se enfriá a una temperatura baja, preferentemente entre 0-10°C y más preferentemente entre 0-4°C. Si la concentración de materia seca está comprendida entre 10 y 16% de biomasa de levadura, se puede emplear una etapa de concentración mediante

## ES 2 286 826 T3

centrifugación que da como resultado un caldo de fermentación más concentrado y una fase acuosa. La fase acuosa se utiliza a continuación en la siguiente fermentación como agua de relleno, ahorrando los componentes nutريentes. Preferentemente, no se lleva a cabo lavado.

5 El caldo de fermentación concentrado obtenido es el nuevo producto de levadura de panadería de acuerdo con la invención, y es una levadura en crema especial que se puede utilizar por parte del panadero de la misma forma que una levadura en crema convencional. La levadura en crema especial se vende directamente como levadura en crema normal o como levadura en crema especial estabilizada (EP-A-461725), o se utiliza para producir levadura en bloques o levadura desecada, bien como levadura seca activa o como levadura seca instantánea, utilizando cualquier 10 procedimiento apropiado.

El procedimiento de la invención puede comprender además la adición de un agente estabilizante para obtener un preparado de levadura adecuado para utilización directa como levadura en crema estabilizada.

15 El procedimiento de la invención puede comprender además el procesamiento adicional para obtener levadura en bloque o levadura granulada, o el secado para obtener levadura seca activa o levadura seca instantánea.

La levadura en crema especial preparada mediante el procedimiento de la invención puede distinguirse fácilmente, 20 no obstante, de una levadura en crema convencional porque la composición de la fase extracelular es bastante diferente. En las levaduras en crema convencionales que comprenden entre 18-22% de sólidos secos de levadura, típicamente la concentración total de los sólidos disueltos será menor de 0,1 osmol/kg (tal como se mide mediante el descenso del punto de congelación, por ejemplo, mediante el equipo Osmomat 030 de Gonotec) y preferentemente será menor de 0,025 osmol/kg (para osmol, véase, por ejemplo, el Webster's new collegiate dictionary (Nuevo diccionario universitario Webster)). Las concentraciones dependen fuertemente de la eficacia del lavado de la levadura en crema, las levaduras en crema sin lavar contienen concentraciones altas y las levaduras en crema lavadas extensamente contienen concentraciones muy bajas. Típicamente, la composición de la levadura en crema convencional comprende 25 componentes no fermentables procedentes de la melaza (de remolacha) y de metabolitos producidos por las células, o que se filtran desde las células durante el almacenamiento. En las proporciones típicas de melazas alimentadas y en el consumo de las mismas por la levadura, principalmente se encuentran ácido succínico y ácido acético, junto con 30 pequeñas cantidades de betaina, ácido pirrolidín carboxílico y sales de potasio y de sodio y otras sales. Una levadura en crema especial obtenida mediante el procedimiento de la invención contiene además de sólidos de levadura en la fracción extracelular, una multitud de sustancias orgánicas procedentes del metabolismo de la levadura y sustancias orgánicas y componentes minerales procedentes del medio. La concentración total de sólidos disueltos será mayor 35 de 0,2 osmol/kg, y más preferentemente mayor de 0,4 osmol/kg. Tal como se observó en la utilización de melazas, típicamente se evita una cantidad excesiva de sales. Además de sales sin consumir y otros componentes del medio, se encuentran muchos metabolitos de la levadura que afectan de forma beneficiosa a las propiedades de sabor y de aroma de los productos de pan preparados con dicha levadura. Estos componentes son productos del metabolismo de la 40 levadura comparables a la producción de componentes durante la fermentación de la masa, tales como glicerol, ácido succínico, ácido isobutírico, aminoácidos de ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, ácido acético, vitaminas, etc. Estos componentes pueden incluir polisacáridos, que se pueden detectar fácilmente, por ejemplo, con técnicas de RMN. Las concentraciones de estos componentes se encuentran típicamente en el intervalo comprendido entre 0,1 y 1 gramos/litro de fase acuosa o superior, para componentes tales como el ácido succínico y el piruvato.

45 La ventaja clara del procedimiento de la invención es que elimina por completo la producción de agua residual en la producción de levadura en crema y reduce a más de la mitad la producción de agua residual para otras formulaciones de levadura, tales como bloques de levadura, levadura granulada o levadura seca.

Otra ventaja es que no hay necesidad de lavar la levadura del fermentador en los separadores, a diferencia de la práctica actual en la que la levadura producida con melaza se lava extensamente para eliminar los componentes no deseados de la melaza procedentes de los procedimientos utilizados en la fábrica de azúcar. Esto no solo proporciona otro ahorro en agua residual, sino que también reduce considerablemente la cantidad de agua de alta calidad necesaria para la producción de la levadura.

55 Esto equivale a una reducción de costes muy importante, puesto que el coste total asociado con el tratamiento del agua residual y con la utilización de agua con calidad de agua potable puede ascender hasta el 25% del precio de coste de la levadura de panadería producida de forma convencional, dependiendo de las normativas locales. Es importante tener en cuenta que esta reducción de costes solo tenderá a aumentar en el futuro puesto que se basa en un ahorro en la utilización de energía y en la utilización de agua limpia (potable), las cuales se espera que lleguen a escasear y a encarecerse en el futuro. Como en el futuro también aumentarán las demandas de tratamiento de agua residual debido a 60 mayores demandas en la pureza del agua liberada al medioambiente, los costes asociados con el tratamiento biológico del agua residual también aumentarán en el futuro. De nuevo, el procedimiento de la invención ayuda a evitar dicho aumento de costes que tienen un impacto sustancial sobre la producción de levadura de panadería.

Además, mediante el procedimiento descrito se han superado los problemas que se pueden prever a partir de la 65 bibliografía. Así, de forma sorprendente, se ha descubierto que el producto obtenido en el procedimiento de la invención no tiene la desventaja de una baja producción de gas debido al largo tiempo de fermentación a bajas velocidades de crecimiento. La nueva composición de levadura obtenida al final de la fermentación, de acuerdo con la invención, es lo bastante activa como para utilizarse de forma normal por parte del panadero. La actividad es típicamente mayor de

# ES 2 286 826 T3

10 ml de gas producido en 3 horas por parte de una cantidad de levadura que contiene 1 mg de nitrógeno Kjeldahl en una masa de bajo contenido graso (véanse los ejemplos). Preferentemente, la producción de gas de tal preparado de levadura es comparable a la de un preparado de levadura en crema convencional.

- 5      Otro problema más que se puede encontrar está relacionado con la energía de mantenimiento requerida para mantener la integridad de la levadura (Herbert, D. (1959); Recent progress in Microbiology (Avances recientes en microbiología) (Tunevall, G. ed) pág. 381; Pirt, S.J. (1965) Proc. R. Soc. Lond. Ser. B 163, 224). Como la energía para el crecimiento, ésta procede del sustrato de carbono pero no se utiliza para la conversión del sustrato de carbono en materia seca de levadura, sino que, en lugar de eso, se utiliza para mantener la integridad de la célula de levadura  
10     (Tempest, D.W. y Neyssel, O.M (1984) The status of YATP and maintenance energy as biologically interpretable phenomena (El estatus del YATP y de la energía de mantenimiento como fenómenos interpretables biológicamente). Ann. Rev. Microbiol. 38, 459-486). Entre otras cosas, esto incluye la energía requerida para mantener los gradientes de concentración para varias sales entre el interior y el exterior de la célula. El aumento de la concentración de biomasa en un procedimiento convencional con melaza como sustrato conduciría a una pérdida importante de rendimiento. Tal  
15     pérdida de rendimiento no se encuentra, debido al hecho de evitar concentraciones excesivas de sal.

Una ventaja clara también es que la levadura en crema especial obtenida mediante este procedimiento aún contiene una alta concentración de metabolitos de levadura, que en una levadura en crema convencional se eliminan mediante lavado o no se producen en absoluto. Estos metabolitos retenidos en el producto potenciarán el valor nutricional y  
20     también el sabor y el aroma de los productos preparados con la levadura.

Esto implica que la invención se extiende no solo a la levadura en crema especial obtenible mediante un procedimiento de la invención, sino que también se extiende a otros preparados de levadura procedentes de tal levadura en crema especial (por ejemplo, bloques, levadura granulada, levadura seca instantánea activa), a masas de harina que  
25     incorporan dichos preparados de levadura y a productos horneados procedentes de las mismas.

La composición de acuerdo con la invención se puede utilizar para preparar levadura en crema con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 16-22% también se puede utilizar para preparar una levadura comprimida con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 26-38%, o se puede utilizar para preparar una  
30     levadura seca o una levadura seca activa con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 90-98%.

## Ejemplos

### *Nutrientes utilizados en el procedimiento de fermentación*

#### *Fuente de carbono*

Como fuente de carbono se puede utilizar una disolución de glucosa al 60%. De forma alternativa, se puede utilizar un jarabe de azúcar comercial que contiene 58% de materia seca, de la cual 47% es glucosa, 0,1% fructosa,  
40     5% disacáridos, 2% trisacáridos y 4% otros componentes.

#### *Fuente de nitrógeno*

Como fuente de nitrógeno se puede utilizar una disolución de urea al 50% o también una disolución de amoníaco al 25%, o una combinación de una disolución de amoníaco al 25% y una dosis de tryptón o una mezcla de aminoácidos seleccionados.

#### *Fuente de fosfato*

Como fuente de fosfato, lo más conveniente es utilizar ácido fosfórico, aunque también se puede utilizar fosfato de mono- o diamonio.

#### *Sales, oligoelementos y vitaminas*

En el caso de la utilización de sustratos de carbono (en parte o para la alimentación total para la fermentación) que no contengan sales, oligoelementos o vitaminas, estos necesitan suplementarse. En la bibliografía se encuentra disponible una amplia información acerca de la composición de los medios de crecimiento. En general, la composición depende de la cepa y del tipo de procedimiento, donde se debería intentar conseguir la adición de suplementos lo más baja posible a fin de ahorrar costes.

Una adición útil por kg de equivalentes de glucosa es: 24 g de  $K_2SO_4$ ; 12 g de  $MgSO_4 \cdot 7ac$ ; 1,6 g de  $CaCl_2 \cdot 2ac$ ; 25 mg de vitamina B1; 1,25 mg de vitamina B2; 95 mg de vitamina B5; 12 mg de vitamina B6; 0,5 mg de biotina; 5,8 mg de ácido p-aminobenzoico; 40 mg de ácido nicotínico; 40 mg de nicotinamida; 1,44 g de inositol; 1025 mg  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6ac$ ; 192 mg de  $ZnSO_4 \cdot 7ac$ ; 30 mg de  $CuSO_4 \cdot 7ac$ ; 17 mg de  $MnSO_4 \cdot ac$ ; 23 mg de  $H_3BO_3$ ; 23 mg de  
65      $Na_2MoO_4 \cdot 2ac$ ; 11 mg de KI; 43 mg de Ribitol.

# ES 2 286 826 T3

## *Receta de la fermentación*

### *Adiciones*

5 Utilizando los medios anteriores se puede diseñar una fermentación con las siguientes adiciones totales para un volumen final de 6 litros: 55 g de sólidos de levadura seca de semilla de levadura; 2950 g de equivalentes de glucosa; 125 g de N, 44,5 g de equivalentes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con suplemento de sales, oligoelementos y vitaminas tal como se explicó anteriormente.

### *10 Programas de alimentación*

La fuente de carbono se alimenta de manera que la velocidad de crecimiento específica aumenta desde 0,08 h<sup>-1</sup> hasta 0,21 h<sup>-1</sup> en 6 horas de fermentación. A partir de entonces, la velocidad de alimentación de la fuente de carbono se incrementa de forma exponencial hasta que se alcanza la velocidad de alimentación máxima en el fermentador (dependiendo de la OTR máxima del fermentador). A partir de entonces la velocidad de alimentación de carbono se mantiene constante hasta que se alimenta al fermentador la cantidad total requerida de carbono. En un fermentador estándar esto tarda típicamente entre 40-50 horas de fermentación.

El nitrógeno se alimenta en relación al carbono alimentado o a una velocidad constante hasta el final de la fermentación. Si es necesario, se puede detener la alimentación antes, creando de ese modo la posibilidad de aumentar las concentraciones de nitrógeno en el caldo al principio de la fermentación para potenciar la asimilación de nitrógeno por parte de las cepas que lo requieren.

### *25 Otros parámetros de fermentación*

El pH se mantiene constante a pH 5,5, la temperatura se mantiene constante a 32°C. La aireación se hace de manera que la concentración de oxígeno disuelto es el 2% del valor de saturación o mayor.

### *30 Fermentaciones con una etapa de concentración*

El procedimiento se puede llevar a cabo tal como se describió anteriormente. La alimentación se mantiene durante 20 horas, lo que da como resultado el 12% de materia seca de levadura. El caldo de fermentación se concentra en un separador dando como resultado una levadura en crema especial del 20% de materia seca de levadura y aproximadamente 0,4 kg de fase acuosa. La fase acuosa se utiliza en la siguiente fermentación como la fase de partida de la fermentación. La adición de los componentes del medio, especialmente la adición de las sales, se puede reducir con las cantidades ya disponibles en la fase acuosa del separador. En una serie de fermentaciones sucesivas, la composición del producto de levadura en crema especial estará en equilibrio y será aproximadamente la misma que para el producto sin la etapa de separación.

### *40 Caracterización del producto*

#### *Composición de la fase de agua extracelular*

La composición química de la levadura es muy similar a la de la levadura de panadería normal. Se obtuvo un contenido de materia seca del 16%. La composición de la fase de agua extracelular es, no obstante, claramente diferente, lo que se puede observar, por ejemplo, en un espectro de RMN del sobrenadante de una levadura en crema especial, tal como se describe en este ejemplo, utilizando glucosa pura como sustrato de carbono en un procedimiento de fermentación de 45 h. En contraposición a una levadura en crema convencional, hemos descubierto que en el producto de acuerdo con la presente invención se incrementó la cantidad de ácido succínico y de polisacáridos, además de una multitud de componentes, tal como se describió anteriormente. Se obtuvo un valor osmótico de 0,8 osmol/kg en contraposición con valores osmóticos de 0,025 osmol/kg o menos para una levadura en crema estándar.

#### *Ensayo de producción de gas en la masa*

Para ensayar la producción de gas, se prepara una masa normal de bajo contenido graso. En relación con la cantidad de harina, la masa contiene el 55% de agua, el 2% de sal y el 0,45% de sólidos de levadura seca. La masa se mezcla de forma normal para obtener una masa desarrollada de forma adecuada, y a continuación, se pone en un dispositivo de medida de la producción de gas, esencialmente tal como se describe por parte de Burrows y Harrison (1959), a 28°C y se incuba durante hasta 3 horas. La cantidad de gas producida se recalculta para la cantidad de gas producida durante un tiempo de 3 horas por una cantidad de levadura que contiene 1 mg de nitrógeno determinado mediante el procedimiento Kjeldahl. Después de recalcular, la cantidad de gas fue de 14 ml. La cantidad de gas producida por una levadura en crema ordinaria bajo estas condiciones es de 15 ml.

**REIVINDICACIONES**

5        1. Composición de levadura de panadería, que tiene un componente de fase de agua celular y extracelular, obtenible mediante un procedimiento que comprende: (a) el comienzo de la fermentación mediante la alimentación de semilla de levadura con una fuente de carbono que no sea melaza y con una fuente de nitrógeno y con otros nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura, y (b) la continuación de la fermentación hasta que el contenido de sólidos de levadura seca del caldo de fermentación comprende entre 10-22%, en el que se controla la velocidad de alimentación de la fuente de carbono que no es melaza para evitar concentraciones de alcohol mayores del 1% durante la fermentación, comprendiendo la composición:

- 10              - levadura de panadería que tiene un contenido de sólidos de levadura seca entre 10 y 22%; y  
15              - una fase extracelular que contiene metabolitos de la levadura y compuestos orgánicos y sales con una concentración de 0,2 osmol/kg o mayor.

20        2. Procedimiento de producción de un caldo de fermentación de levadura para utilización directa como composición de levadura de panadería, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque comprende (a) el comienzo de la fermentación mediante la alimentación de semilla de levadura con una fuente de carbono adecuada que no sea melaza y con una fuente de nitrógeno y con otros nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura, y (b) la continuación de la fermentación hasta que el contenido de sólidos de levadura seca del caldo de fermentación comprende entre 10-22%.

25        3. Procedimiento, según la reivindicación 2, que comprende: la alimentación de semilla de levadura con la fuente de carbono que no es melaza, a una velocidad inicial tal como para permitir el comienzo del crecimiento de la levadura y, a continuación, el aumento de la velocidad de alimentación de la fuente de carbono, de manera que se consigue la velocidad máxima de alimentación de la fuente de carbono mientras que se mantiene la concentración de alcohol a un nivel no mayor del 1%, a una temperatura comprendida entre 20-45°C y a un pH comprendido entre 3-8.

30        4. Procedimiento, según las reivindicaciones 2-3, que comprende la continuación de la fermentación hasta que el contenido de sólidos de levadura seca del caldo de fermentación comprende entre 10-22%, o bien con el mantenimiento de la velocidad máxima de alimentación de la fuente de carbono o con el mantenimiento de esa velocidad de alimentación durante un periodo seguido de una reducción de la velocidad de alimentación de la fuente de carbono para conseguir el consumo del sustrato de carbono de fermentación reducida y/o del alcohol.

35        5. Procedimiento, según la reivindicación 3, en el que el tiempo de fermentación es de más de 20 horas.

40        6. Procedimiento, según la reivindicación 2, en el que la velocidad de crecimiento específica de la levadura al final de la fermentación se encuentra por debajo de  $0,05 \text{ h}^{-1}$  durante un periodo prolongado de 5 horas como mínimo.

45        7. Procedimiento, según la reivindicación 2, que además comprende la concentración del caldo de fermentación hasta un contenido de sólidos secos comprendido entre 16-22%.

50        8. Procedimiento, según la reivindicación 7, mediante el cual la fase acuosa que procede de la concentración se utiliza en una fermentación ulterior.

55        9. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, que además comprende la adición de un agente estabilizante para obtener un preparado de levadura adecuado para utilización directa como levadura en crema estabilizada.

60        10. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, que comprende el procesamiento adicional para obtener levadura en bloque o levadura granulada o el secado para obtener levadura seca activa o levadura seca instantánea.

55        11. Masa de harina que incorpora la composición de levadura según la reivindicación 1.

12. Producto horneado preparado utilizando la masa de harina según la reivindicación 11.

13. Utilización de la composición, según la reivindicación 1, en panificación.

60        14. Utilización de la composición, según la reivindicación 1, para producir una levadura en crema con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 16-22%.

65        15. Utilización de la composición, según la reivindicación 1, para producir una levadura comprimida con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 26-38%.

16. Utilización de la composición, según la reivindicación 1, para producir una levadura seca o una levadura seca activa con un contenido de sólidos secos de levadura comprendido entre 90-98%.