

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 821 131**

51 Int. Cl.:

**C12N 1/16** (2006.01)

**C12N 1/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.04.2014 PCT/FR2014/050869**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15118233**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2014 E 14724120 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 3102671**

54 Título: **Levadura biológica, procedimiento de obtención y usos**

30 Prioridad:

**06.02.2014 FR 1450911**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**23.04.2021**

73 Titular/es:

**LESAFFRE ET COMPAGNIE (100.0%)**

**41, rue Etienne Marcel**

**75001 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BUGEON, AMÉLIE y**

**PETIT, ERIC**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 821 131 T3

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 biológica, procedimiento de obtención y usos

**Campo técnico de la invención**

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de producción de levadura. Se refiere, en particular, a un procedimiento de producción de levadura biológica que comprende el uso de sustratos de origen biológico, en particular, un sustrato biológico que permite completar las necesidades nutricionales de fósforo de la levadura. El procedimiento de la presente invención permite la obtención de levadura y extractos de levadura biológicos conforme al reglamento (CE) 834/2007 de la Unión Europea.

**Técnica anterior/problema para resolver**

10 En la Patente Belga BE 421525 se describe el empleo de fitina o ácido fítico como alimento para la levadura.

En la Patente Europea EP 0 852 910 se describe una composición de nitrógeno que resulta de la hidrólisis del gluten de trigo y su procedimiento de fabricación.

En el documento Bärbel Hahn-Hägerdal describe la función de los medios de cultivo en el desarrollo de cepas de levadura para usos industriales.

15 Para que la levadura se multiplique se requieren fuentes de carbono y de energía, como una mezcla de azúcares: glucosa, fructosa y sacarosa. También se requiere nitrógeno, fósforo, oxígeno y otros oligoelementos entre otros magnesio, sodio, potasio, cinc, cobre o incluso manganeso y factores de crecimiento como biotina, inositol, ácido pantoténico, tiamina, piridoxina, ácido nicotínico o incluso ácido para-aminobenzoico. En el ámbito de la producción clásica de levaduras, se utilizan, en general, melazas de caña de azúcar o de remolacha como fuente combinada de  
20 carbono y energía. Estas melazas aportan a la levadura lo esencial de sus necesidades de carbono, de minerales, de oligoelementos y de vitaminas.

La tasa de nitrógeno de la levadura es del 6 % al 9 % de la materia seca de la levadura, es decir, del 37 % al 56 % de proteínas. Además, el aporte de nitrógeno de las melazas es totalmente insuficiente. Por consiguiente, el aporte de nitrógeno en el medio de cultivo se hace habitualmente en forma de hidróxido u otras sales de amonio o incluso de  
25 urea.

La melaza carece de fósforo. La composición de fósforo de la levadura expresada en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> es, de manera general, un tercio de la del nitrógeno, es decir, del 2 % al 3 % de la materia seca. El fósforo se añade, en general, en forma de ácido fosfórico o de sus sales. La reglamentación europea impone reglas estrictas para la fabricación de levadura biológica, ya esté destinada a alimentación humana o a alimentación animal y cualquiera que sea la aplicación a la  
30 que dicha levadura esté destinada (panificación, extractos de levaduras, vinificación, etc.).

Así, solo son utilizables los sustratos producidos según el modo biológico (reglamento (CE) n.º 834/2007). No obstante, y a modo de excepción (reglamento (CE) n.º 889/2008 después de la modificación por el reglamento (CE) n.º 1254/2008), está autorizado el 5 % del extracto o autolisado de levadura (EXL) no biológicos, calculado sobre la base de la materia seca de los sustratos biológicos mientras los operadores no lo puedan obtener del extracto o del autolisado de levadura procedente de la producción biológica.  
35

Esta excepción de la utilización de EXL no biológico se ha introducido en la legislación para completar los aportes de nitrógeno, fósforo, vitaminas y minerales absolutamente necesarios para la producción de levadura biológica.

En efecto, solo se aplicaría la fabricación industrial de levadura si las necesidades nutricionales de la levadura estuvieran perfectamente cubiertas.

40 Cuando los sustratos biológicos utilizados para la fabricación de levadura biológica son melazas de caña y de remolacha así como una fuente de proteínas aislada de un producto agrícola procedente de la agricultura biológica, esto sustratos aportan una cantidad suficiente de azúcar, nitrógeno y una parte de minerales y vitaminas necesarios para el crecimiento.

45 Por el contrario, la necesidad de fósforo no está satisfecha. En este caso, la utilización de autolisado de levadura permite cubrirla. Sin embargo, incluso seleccionando un autolisado particularmente rico en fósforo, la limitación ponderal de su empleo no cubre más que imperfectamente las necesidades de una fabricación industrial y, de hecho, limita la cantidad y la regularidad.

La provisión de un sustrato rico en fósforo producido según el modo biológico permitiría resolver el problema citado anteriormente y producir, así, levaduras y extractos de levaduras biológicos conforme a los reglamentos de la Unión  
50 Europea.

La solicitante ha encontrado que ciertos productos de origen biológico ricos en ácido fítico son, después de la solubilización y la hidrólisis, una fuente de fósforo eficazmente asimilable por la levadura.

### Resumen de la invención

El objeto de la invención es un procedimiento de cultivo de levadura biológica que comprende la utilización de fuentes de carbono, nitrógeno y fósforo de origen biológico tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

- 5 La fuente de fósforo de origen biológico según la invención es una solución purificada rica en fósforo obtenida por un procedimiento que comprende al menos una etapa de solubilización y de hidrólisis de un sustrato o de una mezcla de sustratos de origen biológico ricos en ácido fítico.

En la invención se describe una solución purificada de origen biológico rica en fósforo asimilable por la levadura.

- 10 En la invención se describe igualmente la utilización de la solución purificada de origen biológico rica en fósforo para la producción de levadura biológica.

En la invención se describe incluso una levadura biológica conforme a los reglamentos de la Unión Europea.

En la invención se describe también un extracto de levadura biológica conforme a los reglamentos de la Unión Europea.

### Descripción detallada de la invención.

- 15 El objeto de la invención es un procedimiento de producción de levadura biológica que comprende la utilización de sustratos de origen biológico aptos para aportar todos los nutrientes necesarios para el crecimiento de la levadura tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

Estos sustratos son, de manera preferible, de melaza como fuente de azúcares, una fuente de proteínas biológicas hidrolizadas como fuente de nitrógeno y al menos una solución purificada rica en fósforo como fuente de fósforo.

- 20 El procedimiento de la invención comprende, además, la utilización de otras sustancias necesarias para el crecimiento de la levadura elegidas entre las autorizadas por el reglamento europeo, como carbonato de sodio, ácidos láctico o cítrico y aceites vegetales.

- 25 En el procedimiento de la invención se emplea la melaza de origen biológico como fuente de azúcar. Según una forma de la invención, la melaza utilizada se elige entre melaza de caña y melaza de remolacha. A fin de aprovechar sus composiciones diferentes en términos de minerales y vitaminas, es preferible según la invención utilizar conjuntamente las melazas de caña y de remolacha en una relación comprendida entre 50/50 y 80/20. Según una forma preferida de la invención la relación de melaza de caña a melaza de remolacha está comprendida entre 65/35 y 75/25, y más preferiblemente próxima a 70/30.

- 30 Según la invención, la fuente biológica de nitrógeno es una fuente de proteínas biológicas hidrolizadas, elegida entre proteínas de arroz, de guisante, de patata, de trigo, de soja, de alfalfa, de espirulina y de gluten.

Según una forma preferible de la invención, la fuente biológica de nitrógeno es el gluten hidrolizado.

- 35 La hidrólisis de la fuente biológica de nitrógeno puede efectuarse mediante un coctel enzimático que permita tener una tasa de solubilización de materia seca próxima al 80 % y un rendimiento de nitrógeno del 80 % al 85 %. Este cóctel enzimático comprende una mezcla de endoproteasas y exopeptidasas, preferiblemente todo o parte de la mezcla neutrasa, alcalasa, cristalasa y flavourzima. Estas enzimas, no OGM (organismos genéticamente modificados), están autorizadas para la fabricación de hidrolizados de proteínas.

- 40 Según la invención, el aporte de fósforo está cubierto por la utilización de una solución, de origen biológico, purificada y rica en fósforo. Esta solución se obtiene por solubilización e hidrólisis de un sustrato vegetal de origen biológico rico en ácido fítico, siendo liberado el fósforo en forma de fosfato inorgánico después de la solubilización y la hidrólisis del ácido fítico.

Según la invención, por sustrato biológico rico en ácido fítico se entiende un sustrato vegetal de origen biológico que comprende de 2 a 18 gramos de fósforo por kilogramo de sustrato del cual del 60 % al 80 % está en forma de ácido fítico.

El sustrato rico en ácido fítico según la invención se elige del grupo de vegetales enumerados en la tabla I, siguiente:

- 45 Tabla I: Contenidos de fósforo total, relación de fósforo fítico sobre fósforo total y actividad fitásica de diferentes materias primas (según Sauvant 2002).

## ES 2 821 131 T3

Nombre	P (g/kg bruto) promedio (desviación estándar)	P fítico / P total (%)	Actividad fitásica (U/kg)	Grupo de interés
Gluten de maíz	8,9 (1,5)	65	0	1
Salvado de arroz graso	16,1 (2,1)	85	120	1
Grano de colza	6,6 (0,9)	70	0	1
Torta de colza	11,4 (0,9)	60	10	1
Torta de soja	6,2 (0,5)	60	20	1
Torta de girasol	10,1 (1,4)	85	0	1
Moyuelo semiblanco de trigo blando	8,7 (1,4)	80	2590	2
Salvado de trigo	9,9 (1,1)	80	1770	2
Centeno	3 (0,3)	65	5350	3
Harina forrajera de trigo blando	3,6	80	3080	3

Como se indica en la tabla anterior, ciertos sustratos ricos en ácido fítico presentan una actividad fitásica más o menos pronunciada. El sustrato de origen biológico rico en ácido fítico según la invención se elegirá según:

- su contenido importante en fósforo (grupo de interés 1);

5 - su contenido importante en fósforo y su riqueza en actividad fitásica (grupo de interés 2);

- su riqueza en actividad fitásica (grupo de interés 3).

Además del fósforo, esencialmente presente en forma de ácido fítico, estos compuestos contienen también proteínas como el almidón, compuestos muy útiles para el crecimiento de la levadura.

Por ejemplo, la composición promedio de salvado de trigo y de torta de soja es:

10 para el salvado de trigo:

- contenido de materia seca del 87 % sobre producto como (TQ)

- fósforo: aproximadamente el 1 % (TQ), o aproximadamente 10 gramos de fósforo por kilogramo de producto, en forma de ácido fítico al 80 %. Actividad fitásica 1770 U/kg

- proteínas: del 15 % al 18 % (TQ)

15 - almidón: el 20 % (TQ)

para la torta de soja:

- contenido de materia seca: del 88 % al 93% (TQ)

- fósforo: el 0,6 % (TQ), (aproximadamente 6 gramos de fósforo por kilogramo) en forma de ácido fítico (60 %) y de fosfolípidos. Actividad fitásica 20 U/kg

20 - proteínas: el 41 % (TQ).

Es necesario hidrolizar estos compuestos para liberar las sustancias asimilables por la levadura, puesto que ni el ácido fítico ni las proteínas ni el almidón son asimilables en su estado por la levadura.

25 El ácido fítico, de fórmula general  $C_6H_{18}O_{24}P_6$ , está constituido por un núcleo de inositol y 6 agrupaciones fosfato (InsP6). Bajo la acción de una fitasa, el ácido fítico se hidroliza en forma de monofosfato inorgánico y de mioinositoles fosfato de grado de fosforilación inferior (InsP5 a InsP1) y de mioinositol libre en ciertos casos como se describe en la Patente Europea EP 1 910 531 B1.

La fitasa empleada para esta hidrólisis puede ser endógena para uno de los sustratos abundantes empleado en la mezcla que se tiene que hidrolizar o exógena en el caso en que la mezcla de vegetales que se tiene que hidrolizar sea deficiente en actividad fitásica endógena.

5 Hay que indicar que el salvado de trigo no requiere el empleo de fitasa exógena. La solubilización del fósforo de salvado de trigo sin utilizar una actividad fitásica exógena es particularmente interesante puesto que el aprovisionamiento de fitasa no procedente de OGM (obligación de reglamento biológico, por sus siglas en francés) es difícil.

10 La mezcla de vegetales, como los descritos en la tabla I, puede permitir el aporte de actividad fitásica aún cuando el vegetal utilizado no pueda ser calificado en un principio como rico en fósforo (sustratos del grupo de interés 3 de la tabla I).

La solubilización y la hidrólisis del ácido fítico se realizan según el modo que comprende al menos las etapas siguientes:

- la trituración del sustrato biológico rico en ácido fítico,
- la puesta en suspensión en agua y el calentamiento de la suspensión y
- 15 - la desactivación enzimática.

A modo indicativo, la trituración se realiza con ayuda de un triturador de martillos provisto de rejilla de 800 µm. Pero puede utilizarse cualquier tipo de triturador.

20 La puesta en suspensión en agua se efectúa a razón de 100 a 250 gramos y preferiblemente de 160 a 180 gramos de producto triturado por kilogramo de suspensión final. La suspensión se calienta a una temperatura comprendida entre 40 °C y 50 °C durante 5 a 20 horas.

Para la desactivación enzimática, la suspensión se lleva a una temperatura de 90 °C durante una duración de 15 a 30 minutos, permitiendo además la pasteurización del sustrato.

A veces es necesario añadir a la suspensión una fitasa exógena para reforzar o para completar la actividad fitásica endógena. En este caso, la fitasa exógena se utiliza a razón de 15 a 25 gramos por kilogramo de producto triturado.

25 Al final de estos tratamientos, las suspensiones se decantan y/o se clarifican y/o se filtran.

Para maximizar la recuperación de la materia solubilizada, los lodos de decantación, los lodos de clarificación centrífuga o las tortas de filtración pueden lavarse, las aguas de lavado se reúnen entonces con el sobrenadante inicial. El conjunto de solutos puede concentrarse a continuación.

30 El análisis de los sobrenadantes y las aguas de lavado concentradas recogidas demuestra que del 80 % al 90 % del fósforo contenido en el sustrato inicial se solubiliza.

Según un modo preferido de la invención, el sustrato rico en ácido fítico es salvado de trigo.

En algún caso, la solubilización del fósforo puede completarse, a continuación, por los tratamientos más clásicos de hidrólisis de proteínas (mezcla de endo- y exopeptidasas) y de sacarificación del almidón (utilización de una mezcla de amilasa y amiloglucosidasa).

35 En la invención se describe la utilización de una solución purificada rica en fósforo, como la descrita anteriormente, en un procedimiento de producción de levadura, en particular en un procedimiento de producción de levaduras biológicas que comprende la utilización de sustratos de origen biológico.

40 El procedimiento de producción de levadura de la invención se aplica según las condiciones de cultivo habitualmente utilizadas para la producción de levadura tradicionales, también en lo que se refiere a las condiciones de operación de la recuperación, el secado y el acondicionamiento de las levaduras producidas.

La presente invención permite, en particular, el desacoplamiento de los aportes de ingredientes principales necesarios para el crecimiento de la levadura que son el azúcar, la fuente de nitrógeno, la fuente de fósforo y el aire. Este desacoplamiento se busca para controlar la composición final de la levadura fabricada.

En la invención se describe igualmente la levadura biológica como la producida por el procedimiento de la invención.

45 En la invención se describe además el uso de la levadura biológica de la invención en el campo de la panificación, de la producción de alcohol, y más generalmente para la alimentación humana y la alimentación animal.

Las levaduras de la invención son particularmente útiles para la producción de extractos de levaduras biológicas.

En la invención se describe también un extracto de levadura biológica obtenido a partir de levaduras biológicas de la

invención.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención sin limitar el alcance.

**Ejemplos**

Ejemplo 1: Solubilización e hidrólisis del gluten

5 Se sabe que la hidrólisis de proteínas vegetales por una proteasa purificada (tipo papaína o alcalasa) puede mejorarse por adición de levadura en autólisis (Patente Europea EP0578572A, Patente de EE. UU. US201202888587).

Para demostrar la eficacia del coctel enzimático propuesto por la invención, la solicitante ha realizado los tres ensayos siguientes:

- Receta 1: gluten de origen Blattman, levadura biológica de cervecería puesta en autólisis, papaína

10 - Receta 2: gluten de origen Celnat, levadura biológica de panadería puesta en autólisis, papaína (cristalasa), neutrasa y alcalasa

- Receta 3: gluten de origen Celnat y/o Blattman, neutrasa, alcalasa, flavourzima.

15 En un primer tiempo (receta 1) solo la levadura biológica de cervecería puesta en autólisis se ha utilizado en asociación con papaína (cristalasa). A continuación en un segundo tiempo y para compensar la pérdida de actividades proteolíticas de las células de levaduras de cervecería, se han empleado dos enzimas suplementarias (neutrasa y alcalasa) en asociación con la levadura biológica de panadería puesta en autólisis (receta 2).

Finalmente, la papaína ha sido reemplazada por flavourzima (mezcla de endoproteasa y exopeptidasa) y se ha abandonado el empleo de crema de levadura biológica de panadería puesta previamente en autólisis.

Los balances de materias de estas 3 recetas de hidrólisis se reúnen en la tabla II.

20 Tabla II: Resultados globales de diferentes recetas de hidrólisis del gluten empleadas durante los ensayos de levadura biológica.

Receta	Receta 1	Receta 2	Receta 3		
Materias primas	(en kg MS/T hidrolizado final no clarificado)				
Gluten					
- natural	Blattman	Celnat	Celnat	Celnat	Blattman
- contenido en MS	93,9 %	93,4 %	93,6 %	94,1 %	92,6 %
- concentration	23 kg MS/T	103 kg MS/T	167 kg MS/T	138 kg MS/T	152 kg MS/T
- relación MS	50 %	90 %	100 %	100 %	100 %
Levadura					
- natural	Cervecería	Panadería			
- concentration	23 kg MS/T	10 kg MS/T			
- relación MS	50 %	10 %			
Enzimas (en kg MS/T MS para hidrolizar)					
Hidrólisis proteína					
Papaína	3,34 kg MS/T	21,43 kg MS/T			
Neutrasa		19,10 kg MS/T	3,20 kg MS/T	4,78 kg MS/T	4,85 kg MS/T
Alcalasa		17,85 kg MS/T	2,58 kg MS/T	3,86 kg MS/T	3,92 kg MS/T
Flavourzima			0,11 kg MS/T	0,16 kg MS/T	0,16 kg MS/T
Solubilización					

## ES 2 821 131 T3

Materia seca					
- contenido (kg MS/T sobrenadante)	43,0 kg MS/T	99,0 kg MS/T	153,3 kg MS/T	128,2 kg MS/T	135,5 kg MS/T
rendimiento (% de MS implicada)	81 %	73 %	80 %	83 %	79 %
Nitrógeno					
- rendimiento (% de N implicado)	86 %	82 %	80 %	84 %	85 %
Tasa de lodos después de centrifugación labo 4000 G - 10 min (en kg MS/T hidrolizado no clarificado)					
- tasa	7 kg MS/T	31 kg MS/T	38 kg MS/T	25 kg MS/T	29 kg MS/T
- contenido en MS lodos	10 %	28 %	30 %	27 %	28 %

En términos de solubilización de la materia seca aplicada, solo la receta 2 ha presentado una menor eficacia (el 73 % frente a un porcentaje del 80 % al 83 %).

5 En términos de solubilización del nitrógeno, no aparece diferencia neta entre las tres recetas probadas. El empleo de flavourzima parece pues reemplazar globalmente la utilización eficaz de crema de levadura (cervecería o biológica reciclada, previamente puesta en autólisis).

10 La receta 3 permite un rendimiento de nitrógeno próximo al 85 % lo que es totalmente suficiente y una tasa de degradación de proteínas del 39 % bastante satisfactoria, siendo la tasa de degradación la proporción entre el contenido de hidrolizado en nitrógeno aminado (procedente de la hidrólisis) y el contenido del hidrolizado de nitrógeno total.

Ejemplo 2: Solubilización e hidrólisis de salvado de trigo y de torta de soja

Las condiciones de operación de diferentes tratamientos aplicados así como los resultados obtenidos se describen a continuación:

- salvado de trigo:

- 15
- trituración de salvado. Como ilustración, se ha utilizado un triturador de martillos equipado con una rejilla de 800 µm durante ensayos piloto.
  - puesta en suspensión en agua a razón de 165 g de salvado triturado por kilogramo de suspensión.
  - calentamiento a una temperatura de 40 °C a 50 °C durante 5 a 20 horas.
  - sin adición de fitasa exógena, la reacción se efectúa gracias a la actividad fitásica endógena del salvado.
- 20
- desactivación enzimática a 90 °C durante 30 minutos.

- torta de soja :

- 25
- trituración de la torta. Como ilustración, se ha utilizado un triturador de martillos equipado con una rejilla de 800 µm durante ensayos piloto,
  - puesta en suspensión en agua a razón de 165 g de salvado triturado por kilogramo de suspensión,
- 25
- calentamiento a una temperatura de 40 °C a 50 °C,
  - adición de fitasa exógena (Sumizyme PHY) a la dosis de 20 gramos por kilogramo de torta bruta aplicada, siendo casi nula la actividad fitásica endógena,
  - duración del tratamiento de 5 a 20 horas, temperatura regulada,
  - desactivación enzimática a 90 °C durante 30 minutos.

30 A la vista de estos tratamientos, las suspensiones de salvado o de torta se decantan y/o se clarifican y/o se filtran.

Para maximizar la recuperación de la materia solubilizada, los lodos de decantación, de clarificación o las tortas de filtración pueden lavarse, las aguas de lavado se recogen entonces con el sobrenadante inicial. El conjunto de los solutos puede concentrarse a continuación.

5 El análisis de los sobrenadantes y las aguas de lavado concentradas recogidas demuestra que del 80 % al 90 % del fósforo contenido en el sustrato inicial se solubiliza.

El empleo de fitasa exógena para el tratamiento de salvado de trigo no mejora el rendimiento de solubilización/recuperación.

10 La solubilización del fósforo de salvado de trigo sin recurrir a una actividad fitásica exógena es particularmente interesante puesto que el aprovisionamiento de fitasa no procedente de OGM (obligación del reglamento biológico) es difícil.

La solubilización del fósforo puede ser completado a continuación por tratamientos más clásicos de hidrólisis de proteínas de salvado o de torta (utilización de una mezcla de endo- y exopeptidasas) y sacarificación del almidón de salvado de trigo (utilización de una mezcla de amilasa y de amiloglucosidasa).

15 Como ejemplo, la aplicación de estos diferentes tratamientos permite la preparación de hidrolizados clarificados cuyas composiciones se resumen en la tabla III.

Tabla III: Características de diferentes hidrolizados de salvado de trigo o de torta de soja obtenidos después de tratamientos sucesivos para hidrolizar el ácido fítico, después las proteínas, después el almidón.

Característica de zumo clarificado	Decocción de salvado de trigo hidrólisis de ácido fítico			Decocción de torta de soja hidrólisis de ácido fítico por enzimas exógenas	
		+ hidrólisis de proteínas	+ hidrólisis de almidón		+ hidrólisis de proteínas
Materia seca g/kg	51,3	81,2	81,4	83,5	116,6
Nitrógeno % MS	4,9	3,8	4,0	4,2	8,3
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> % M S	13,7	6,8	7,1	3,7	2,2
Monómero de azúcar g/kg	15,6	23,8	43,2		

20 Es particularmente interesante observar que los contenidos en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/MS de los hidrolizados clarificados procedentes de salvado de trigo son elevados.

#### Ejemplo 3: Producción de levadura biológica

Los diferentes hidrolizados procedentes del tratamiento de salvado de trigo o de torta de soja (ejemplo 2) se han empleado para la producción de levadura biológica, según un procedimiento industrial clásico de producción de levaduras prensadas.

25 En conjunto, los ensayos se desarrollan muy bien a todos los niveles del ciclo de fabricación probado.

Los rendimientos de crecimiento observados durante los estadios de levadura madre son comparables a los observados habitualmente con un autolisado de levadura.

No se ha observado ninguna carencia en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ni en prefermentación ni en primera generación (G1 levadura madre) (tabla IV).

30 Los rendimientos de crecimiento son muy buenos.

La actividad fermentativa de esta serie de ensayos es globalmente muy satisfactoria y equivalente a la de los ensayos de referencia. La conservación de la friabilidad de las levaduras prensadas producidas es buena.

En conclusión, el fósforo procedente de la hidrólisis del ácido fítico contenido en el salvado de trigo o la torta de soja es pues bien asimilado por la levadura de panadería y permite la fabricación de una levadura de calidad.

Tabla IV: Tasa de fósforo observada durante la producción de levadura biológica (la tasa de fósforo se expresa como % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/materia seca levadura)

	Hidrolizado de salvado de trigo	Hidrolizado de torta de soja
Prefermentación	5,5	4,4
Levadura madre (G1)	1,8	1,8
Levadura comercial (G2)	1,7 a 2,1	1,5 a 1,6

5

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento de cultivo de levadura biológica en un medio de cultivo que comprende fuentes de carbono, nitrógeno y fósforo de origen biológico, caracterizado por que la fuente de fósforo es una solución purificada rica en fósforo, comprendiendo dicho procedimiento la obtención de la solución purificada rica en fósforo por solubilización e hidrólisis de al menos un sustrato biológico rico en ácido fítico, comprendiendo de 2 a 18 gramos de fósforo por kilogramo de sustrato del que del 60 % al 80 % está en forma de ácido fítico, según el modo siguiente:
- 5                   a. Trituración de dicho sustrato biológico rico en ácido fítico,
- b. puesta en suspensión del producto obtenido en a,
- c. calentamiento de la suspensión,
- 10                   d. desactivación enzimática de la suspensión,
- entendiéndose que el término «biológico» es conforme al reglamento (CE) 834/2007 de la Unión Europea.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que dicho sustrato rico en ácido fítico presenta también una actividad fitásica.
3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que dicho sustrato rico en ácido fítico se elige del grupo que contiene: gluten de maíz, salvado de arroz graso, granos de colza, torta de soja, torta de girasol, moyuelos semiblancos de trigo blando, salvado de trigo, centeno, harina de trigo blando.
- 15                   4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que el sustrato triturado se pone en suspensión en agua a razón de 100 a 250 gramos y preferiblemente de 150 a 170 gramos de producto triturado por kilogramo de suspensión.
- 20                   5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la suspensión se calienta a una temperatura comprendida entre 40 °C y 50 °C durante 5 a 20 horas.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la suspensión comprende una fitasa.
- 25                   7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que el sustrato rico en ácido fítico es salvado de trigo.
8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que el procedimiento de solubilización y de hidrólisis puede completarse por un tratamiento de hidrólisis de proteínas y de sacarificación del almidón.
- 30                   9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que la fuente de nitrógeno es preferiblemente de gluten hidrolizado.
10. Procedimiento según la reivindicación 9, caracterizado por que la hidrólisis del gluten se realiza por un coctel enzimático que comprende las enzimas siguientes: neutrasa, alcalasa, cristalasa y flavourzima.
11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que la fuente de azúcar es la melaza de caña y/o de remolacha.
- 35                   12. Procedimiento según la reivindicación 11, caracterizado por que la fuente de azúcar está constituida preferiblemente por una mezcla de melaza de caña y melaza de remolacha en una relación comprendida entre 50/50 y 80/20 y preferiblemente entre 65/35 y 75/25, y más preferiblemente próxima a 70/30.
13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado por que comprende además la adición de carbonato de sodio, ácidos láctico o cítrico y aceites vegetales.