

PROCESO PARA AUTOLISIS MEJORADA DE SAPONINA DE LEVADURA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud
5 Provisional E.U.A. No. 61/183,207 presentada El 23 de junio
de 2015, que se incorpora aquí en su totalidad como
referencia.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere en general a procesos para
10 la producción de productos de levadura. De manera más
específica, la presente invención se refiere a procesos que
incorporan saponina para interrumpir y dañar
intencionadamente una pared celular de levadura para mejorar
selectivamente la producción de saborizantes de extracto de
15 levadura, productos de la pared celular de levadura y
productos de fermentación de la saponina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La levadura de panadero (*Saccharomyces Cerevisiae*) es una
especie de levadura que se ha utilizado para la elaboración
20 de pan, preparación de vino y cerveza por miles de años. En
general, la levadura de panadero se puede cultivar utilizando
azúcares tales como, por ejemplo, sacarosa, fructosa,
glucosa, maltosa y trehalosa y, como tal, puede ser un
producto viable para procesos en los que estos azúcares están

fácilmente disponibles. Una aplicación específica en la que dichos azúcares están fácilmente disponibles para su consumo en una instalación de procesamiento de remolacha azucarera en la que los productos primario y secundario de azúcar de remolacha (sacarosa) y melaza, respectivamente, se producen y se encuentran fácilmente disponibles para alimentar la levadura de panadero.

Cuando se suministra a los consumidores de levadura tradicionales tales como para la producción de productos de masa fermentada o bebidas fermentadas, una levadura de panadería satisfactoria está en una forma comprimida o de crema. En estas formas comprimidas o de crema, la pared celular de la levadura de panadero es lo suficientemente fuerte de manera que las paredes de las células de levadura permanecen estables para tolerar calor, frío y estrés osmótico.

En tanto que la producción de levadura de panadero comprimido o de crema es ventajosa con los usos de fermentación tradicionales, puede haber otras aplicaciones de levadura en las que tener una pared celular fuerte puede ser desventajoso para los resultados del proceso. Como tal, sería benéfico desarrollar formas para producir selectivamente levadura de panadero que tenga una pared celular menos robusta o debilitada para procesos en los que son deseables

los productos de la pared celular o el sabor del extracto de levadura.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los procesos de la presente invención dirigen el deseo de
5 producir células de levadura con una pared celular debilitada
o menos robusta a través de la introducción selectiva de
niveles elevados de saponina. La saponina, un fungicida que
se encuentra en muchas plantas, es un grupo de glicósidos
anfipáticos conocidos por sus propiedades floculantes en
10 solución acuosa. Cuando se añade durante la fermentación o a
la crema de levadura, la actividad metabólica entre la
saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado,
por ejemplo, ARN incrementado y Amino Nitrógeno Libre (FAN)
liberado durante la autólisis de la levadura, indicando de
15 esta manera el daño y/o debilitamiento de la membrana de la
pared celular. Añadiendo saponina a crema de levadura, se
puede incrementar la producción y/o la velocidad de
producción de los componentes de la pared celular y de los
extractos de levadura. En el contexto de una instalación de
20 procesamiento de remolacha azucarera, la saponina, que está
contenida dentro de las corrientes de procesamiento durante
la producción de sacarosa, está fácilmente disponible y se
puede introducir durante la fermentación o a la levadura en
crema sin requerir ningún recurso o costos de adquisición

adicionales. Además de la producción de los componentes de la pared celular y extractos de levadura, la actividad entre la saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado la formación de metabolitos de saponina.

5 En un aspecto, la presente invención está dirigida a un proceso para mejorar la producción de componentes de pared celular de levadura y extractos de levadura. En general, el proceso puede comprender la adición de saponina durante la fermentación o a crema de levadura antes de la autólisis de
10 la levadura. Como resultado de la interacción metabólica entre la levadura y la saponina en el fermentador o en la crema de levadura, se puede incrementar la cantidad y/o velocidad de liberación de ARN durante la autólisis de las células de levadura. Un aumento en la liberación de ARN
15 indica la ruptura y/o debilitamiento de la membrana de la pared celular de levadura. Un incremento en la cantidad o velocidad de liberación de ARN corresponde con un incremento en la producción de productos de autólisis de levadura. Los fabricantes representativos producen, por ejemplo,
20 hidrolizado de proteína, ingredientes saborizantes de alimentos tales como nucleótido 5' al 10% I y G, extractos de levadura básicos y beta-glucano a partir de componentes de pared celular de levadura y extractos pueden ver la producción de estos productos de autólisis de levadura

mejorados. Además de la producción de los componentes de la pared celular de levadura y extractos de levadura, la actividad entre la saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado la formación de metabolitos de saponina.

5 En otro aspecto, la presente invención es un proceso para utilizar un producto de saponina que se aísla durante el procesamiento agrícola, por ejemplo, procesamiento de remolacha azucarera, para producir e/o incrementar selectivamente las cantidades y velocidades de producción de
10 componentes de pared celular de levadura y extractos de levadura. El proceso puede utilizar extractos de saponina aislados o materiales vegetales secos que contienen saponinas. La saponina puede ser procesada o de origen natural. El proceso puede comprender la adición de saponina
15 durante fermentación o a la crema de levadura antes de la autólisis de la levadura. Además de la producción de los componentes de la pared celular de levadura y extractos de levadura, la actividad entre la saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado la formación de
20 metabolitos de saponina.

En otro aspecto más, la presente invención puede comprender un proceso para hacer crecer intencionalmente levadura que tiene una membrana de pared celular de levadura dañada y/o debilitada. El proceso puede comprender la adición

de saponina durante la fermentación o a la crema de levadura antes de la autólisis de la levadura. El proceso puede comprender además incrementar la velocidad de producción y/o producción de componentes de pared celular de levadura y extractos de levadura. El proceso puede comprender llevar a cabo las etapas bajo condiciones anaeróbicas o aeróbicas. El proceso puede comprender además la formación de metabolitos de saponina.

En otro aspecto, la presente invención puede comprender un método para incrementar la velocidad de producción y/o el rendimiento de componentes de pared celular de levadura y extractos de levadura a través de la introducción de saponina durante la fermentación o a una crema de levadura antes de la autólisis de la levadura. Las especies de levadura que podrían ser dirigida para el tratamiento de saponina pueden incluir, por ejemplo, cepas de *Saccharomyces Cerevisiae* (levadura de panadero y cervecero), *kluveromyces fragilis*, y cepas *Candida*, tales como *candida utilis*, y combinaciones de los mismos, *saccharomyces delbruekii*, *saccharomyces rosei*, *saccharomyces microelipsoides*, *saccharomyces carlsbergensis*, *schizosaccharomyces pombe*, *kluveromyces lactis*, *kluveromyces polysporus*, *candida albicans*, *candida cloacae*, *candida tropicalis*, *candida guilliermondii*, *hansenula wingei*, *hansenula arni*, *hansenula henricii*, *hansenula americana* y

combinaciones de las mismas. Además, la actividad metabólica entre la saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado la formación de metabolitos de saponina.

El sumario anterior de las diversas modalidades representativas de la invención no pretende describir cada modalidad ilustrada o cada implementación de la invención. Más bien, las modalidades se eligen y describen de manera que otros expertos en la técnica. La técnica puede apreciar y entender los principios y prácticas de la invención. Las figuras en la descripción detallada que siguen ejemplifican más particularmente estas modalidades.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La invención se puede entender completamente en consideración de la siguiente descripción detallada de la invención de varias modalidades de la invención en relación con los dibujos adjuntos, en los cuales:

La FIGURA 1 ilustra la Densidad Óptica (OD) con el tiempo para medir los efectos de la saponina sobre el crecimiento de cultivos de levadura durante la fermentación.

La FIGURA 2 demuestra la liberación de ARN mejorada para una muestra en la que se añadió saponina a crema de levadura a una fermentación de 30°C durante 2 horas en comparación con el control.

La FIGURA 3 ilustra la relación de concentración de ARN

correspondiente a las muestras ilustradas en la FIGURA 2.

La FIGURA 4 ilustra la autólisis mejorada por saponina de la levadura de panadero a través de la medición de amino nitrógeno libre.

5 La FIGURA 5 ilustra la autólisis mejorada de saponina a 50° C mediante la medición de amino nitrógeno libre a las 24 horas.

La FIGURA 6 ilustra la autólisis mejorada de saponina a 50° C mediante la medición del amino nitrógeno libre a las 48
10 horas.

Aunque la invención es susceptible de varias modificaciones y formas alternativas, las características de la misma se han mostrado a modo de ejemplo en los dibujos y se describirán con detalle. Se debe entender, sin embargo,
15 que la intención no es limitar la invención a las modalidades particulares descritas. Por el contrario, la intención es cubrir todas las modificaciones, equivalentes, y alternativas que caen dentro del espíritu y alcance de la invención como se define por las reivindicaciones anexas.

20 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

Los procesos de acuerdo con las modalidades representativas de la presente invención pueden ser utilizados para incrementar selectivamente la velocidad de producción y/o el rendimiento de componentes de pared celular de levadura y

extractos de levadura. En general, el proceso implica la adición selectiva de saponina durante la fermentación (ya sea fermentación por lotes, fermentación por lotes alimentada o fermentación continua) o a una crema de levadura antes de la autólisis de levadura por lo que la actividad metabólica entre la levadura y la saponina da como resultado una membrana de pared celular de levadura dañada y/o debilitada. Las membranas de pared celular de levadura dañadas/debilitadas se indican generalmente por la presencia incrementada de ARN en los autolisados resultantes. Una presencia incrementada de ARN en los autolisados resultantes indica una presencia incrementada de productos de autólisis de levadura que incluyen la pared celular, productos saborizantes y de extracto. Las especies de levadura representativas que pueden ser dirigidas para el tratamiento de saponina de la presente invención pueden incluir, por ejemplo, cepas de *Saccharomyces Cerevisiae* (levadura de panadero y cervecero, *kluveromyces fragilis*, y las cepas de *candida*, tales como *candida utilis*, y combinaciones de las mismas, *saccharomyces delbruekii*, *saccharomyces rosei*, *saccharomyces microelipsoides*, *saccharomyces carlsbergensis*, *schizosaccharomyces pombe*, *kluveromyces lactis*, *kluveromyces polysporus*, *candida albicans*, *candida cloacae*, *candida tropicalis*, *candida guilliermondii*, *hansenula wingei*,

hansenula arni, *hansenula henrencia*, *hansenula americana* y combinaciones de las mismas. Además de la producción de productos de pared celular de levadura, la actividad entre la saponina y la crema de levadura/levadura da como resultado la
5 formación de metabolitos de saponina.

La saponina es un glicósido anfipático que se encuentra frecuentemente dentro de diversas especies de plantas que incluyen remolacha azucarera y posee propiedades fungicidas. Cuando se usa azúcar de remolacha en diversas aplicaciones,
10 se ha encontrado que la presencia de saponina es desventajosa debido a sus propiedades de flotación. Por ejemplo, cuando la saponina está presente dentro de la remolacha azucarera utilizada en la industria de bebidas que produce bebidas refrescantes carbonatadas de bajo pH, como ejemplo, la bebida
15 resultante puede sufrir problemas de calidad (turbidez) debido a la floculación.

La cooperativa de granjeros Minn-Dak de Wahpeton, Dakota del Norte, es un procesador de remolacha azucarera que procesa remolacha azucarera para recuperar sacarosa. Además
20 de azúcar de remolacha, Minn-Dak también tiene una planta de levadura que utiliza un subproducto del proceso de refinación, melaza, para producir levadura de panadero. En la producción de levadura de panadero, Minn-Dak ha identificado ciertas condiciones en las que la producción de levadura

comprimida se compromete, lo que resulta en que se ha considerado tradicionalmente un producto de levadura "gomoso" inaceptable. La consistencia gomosa se considera mala calidad para los consumidores de levadura de panadero tradicionales tales como panaderías comerciales para preparar productos de masa y cervecerías que hacen bebidas fermentadas. Sin embargo, la consistencia gomosa resultante del producto de levadura es indicativa de daños en la membrana de la pared celular que puede ser ventajoso para otros usuarios de productos de pared celular de levadura y extractos de levadura. Como tal, Minn-Dak ha descubierto un proceso repetible para mejorar intencionalmente la producción de productos de pared celular de levadura y extractos de levadura a través de la introducción selectiva de saponina a cultivos de levadura durante fermentación o a la crema de levadura antes de la autólisis de la levadura. Además, la presencia de saponina en las corrientes de procesamiento del proceso de remolacha azucarera de Minn-Dak proporciona un mecanismo económico y fácilmente disponible. Para mejorar selectivamente la producción y/o la velocidad de producción de productos de pared celular de levadura y extractos de levadura en la instalación de producción de levadura existente.

Adición de Saponina Durante la Fermentación

Para producir levadura de panadero, es necesaria una fuente de energía basada en carbono para la propagación de levaduras. Tradicionalmente, el proceso de fermentación se ha
5 llevado a cabo con la intención de cultivar células de levadura que finalmente asumen una forma comprimida adecuada para su utilización en la industria de panadería. En los siguientes ejemplos, se añade intencionadamente saponina, ya sea como un componente de la fuente de energía o como un
10 suplemento a la fuente de energía, a cultivos de levadura durante un período de fermentación para determinar el impacto de la saponina en el desarrollo de las células de levadura.

A través de los siguientes ejemplos, la levadura usada en todos los experimentos fue la levadura de panadero
15 cultivada primaria obtenida de los tanques de fermentación de producción de la Minn-Dak Yeast Company. Todas las muestras de levadura se probaron para la gasificación y la estabilidad del choque térmico para verificar la salud y la vitalidad de la muestra de levadura. Sólo se utilizó levadura estable de
20 alta calidad para los experimentos. Los Ejemplos 1 y 2 se realizaron dentro de un matraz de laboratorio, mientras que se usó un fermentador Microferm de Brunswick Scientific Company, de 14 litros, como un reactor de autólisis para los Ejemplos 3 y 4. El Microferm tenía temperatura y control de

pH con un agitador que gira a 400 rpm con 3 impulsores de estilo de rueda de paletas de 6 hojas. Las variables de proceso que incluyen el mezclado, el pH y la temperatura se controlaron a lo largo de los ejemplos.

5 **Ejemplo 1**

Se prepararon tres muestras en las cuales los cultivos de levadura se propagaron en un matraz. La fuente de energía para cada muestra fue melaza de remolacha azucarera, que comprende principalmente sacarosa, glucosa y fructosa.

10 Generalmente, la melaza de remolacha azucarera está disponible como un subproducto del procesamiento de remolacha azucarera.

En la muestra 1, las melazas de remolacha azucarera se suministraron directamente al matraz sin

15 pretratamiento/filtración. En la muestra 2, las melazas de remolacha azucarera se filtraron antes de añadirse al matraz para eliminar cualquier saponina antes de la exposición al cultivo de levadura. En la muestra 3, las melazas de remolacha azucarera tenían una cantidad controlada de

20 saponina añadida antes de la fermentación. Durante el transcurso de la fermentación, la Densidad Óptica (OD) se midió rutinariamente para cada muestra, en donde las mediciones de OD más altas corresponden con el crecimiento de células de levadura incrementado. De manera correspondiente,

las mediciones de OD inferiores indican un crecimiento de células de levadura reducido.

Los resultados de la OD para las muestras 1, 2 y 3 se resumen en la FIGURA 1. En general, los resultados muestran
5 que la eliminación de la saponina antes de la fermentación (muestra 2) resulta en el crecimiento de células de levadura más alto, mientras que las melazas enriquecidas con saponina (muestra 3) impiden significativamente el crecimiento de las células de levadura. La muestra de control (muestra 1) parece
10 indicar la presencia de niveles más bajos de saponina (en comparación con la muestra 3), que se esperaría en las melazas de remolacha azucarera que no experimentaban filtración antes de la fermentación.

Adición de Saponina a la Crema de Levadura

15 Cuando se añade saponina a la crema de levadura, la actividad metabólica entre la saponina y la crema de levadura da como resultado daños a y/o debilitamiento de la membrana de la pared celular de levadura. El daño/debilitamiento resultante de la membrana de la pared celular de levadura puede
20 cuantificarse midiendo la cantidad de ARN liberado durante la autólisis de levadura con un espectrofotómetro ajustado a una longitud de onda de 260 nm. El aumento en la liberación de ARN debido a la adición de saponina se demuestra en el ejemplo experimental a continuación.

Ejemplo 2

Se prepararon dos muestras de crema de levadura y se incubaron simultáneamente. La primera muestra fue un control que contenía solamente crema de levadura. La segunda muestra
5 contenía crema de levadura idéntica al control pero tenía una cantidad conocida de extracto de saponina añadido a la mezcla. Las dos muestras se incubaron bajo condiciones idénticas a una temperatura de 30° C durante un período de dos horas en un baño de agua de temperatura controlada para
10 iniciar la actividad metabólica entre la saponina y la crema de levadura. Después de dos horas, las dos muestras se calentaron a 50°C en menos de 10 minutos, después de cuyo tiempo permanecen a esa temperatura durante un período de seis horas para conseguir la autólisis de la levadura.
15 Durante la autólisis, cada una de las dos muestras se analizó periódicamente con un espectrofotómetro a 260 nm para medir la liberación de ARN, y los índices de absorbancia se muestran en la FIGURA 2.

Como se ve en la FIGURA 2, la muestra que contiene
20 saponina tenía un índice de ARN significativamente mayor en comparación con el control de intervalos de tiempo compartidos. Si la relación de las concentraciones de ARN de las dos mezclas de ensayo se representa con el tiempo, se puede ver en la FIGURA 3 que la autólisis mejorada por

saponina generó dos a ocho veces más ARN que el control durante el período de prueba de ocho horas.

Como se indica en la prueba, la introducción de saponina y/o de subproductos que contienen saponina a partir del procesamiento de la remolacha azucarera da como resultado mayores niveles de ARN que se liberan durante la autólisis de la levadura. La presencia de mayores niveles de ARN es una indicación del daño/debilitamiento de la pared celular de levadura y es beneficiosa cuando los productos deseados son productos de pared celular de levadura y extractos de levadura. Por el control selectivo de la adición de saponina durante fermentación de levadura o antes de la autólisis, un producto final de levadura, ya sea en forma comprimida con una pared celular robusta para panaderías y cervecerías comerciales o levadura gomosa para productos de pared celular de levadura y extractos de levadura, se pueden producir selectivamente. Más específicamente, la producción de productos de pared celular de levadura y extractos de levadura, por ejemplo, hidrolizado de proteína, ingredientes saporizantes de alimentos tales como nucleótido 5' al 10% I y G, extractos de levadura básicos y el beta-glucano, se pueden incrementar a través de la introducción de saponina a crema de levadura antes de la autólisis.

Autolisis Mejorada con Saponina

En los siguientes Ejemplos 3 y 4, un extracto de saponina (extraído durante el procesamiento de remolacha azucarera) se utilizó en la prueba de autolisis de levadura. El extracto de saponina consiste en:

Extracto de saponina	% en peso
Azúcar	≈65%
Proteína	≈5%
Saponina	≈30%

10 **Ejemplo 3**

Se prepararon tres muestras de levadura de panadero. La primera muestra fue una muestra de control de levadura de panadero de alta calidad sin ninguna saponina. La segunda muestra contenía levadura de panadero de alta calidad con 70g de extracto de saponina añadido como detergente bajo condiciones en las que se produce poca o ninguna actividad de fermentación entre la levadura y la saponina. La tercera muestra contenía levadura de panadero de alta calidad con 70g de extracto de saponina añadido como alimento de fermentación a 30° C durante 2 horas antes de la etapa de autolisis. Las 3 muestras de levadura de panadero se colocaron en un reactor de autolisis a 45° C y a un pH de 5.45-5.55. Las muestras se extrajeron del reactor a 24 y 48 horas en la autolisis. Se centrifugaron alícuotas de 50 ml de las muestras en una

centrífuga a 3300 rpm durante 8 minutos. Las muestras tenían un peletizado de pared celular de levadura en el fondo del tubo y un líquido de extracto de fase ligera sobre la parte superior. El extracto de fase ligera se filtró a través de un
5 filtro de tierra diatomácea y se analizó para determinar la concentración de amino nitrógeno libre (FAN). Se utilizó FAN como indicación de la actividad autolítica. Mayores concentraciones de FAN indican una mayor liberación de proteínas de células de levadura y enzimas proteolíticas.

10 Como se ve en la FIGURA 4, las tres muestras tenían concentraciones de FAN similares a las 24 horas en autólisis. La muestra 2, sin una etapa de fermentación pre-autólisis, tenía aproximadamente la misma concentración de FAN que el control. Sin embargo, a las 48 horas, la muestra 3 tenía un
15 aumento del 91% en la FAN sobre el control. La reacción en la muestra 2 se llevó a cabo bajo condiciones en las que la saponina es un detergente no biológicamente activo, sin una etapa de fermentación. Los resultados de la muestra 3 indican que la adición de saponina durante la fermentación de
20 levadura bajo condiciones biológicamente activas tiene el efecto de incrementar la actividad autolítica. Esto indica que la introducción de saponina durante una etapa de fermentación acelera finalmente la autólisis de la levadura. Se cree que el mecanismo para estos resultados es la

interacción de los glucósidos de saponina y la pared celular de levadura bajo condiciones que promueven la actividad de fermentación.

Ejemplo 4

5 Se prepararon cuatro muestras de levadura de panadero. La primera muestra fue una muestra control de levadura de panadero de alta calidad sin saponina añadida. La segunda muestra contenía levadura de panadero de alta calidad con 35 g de extracto de saponina que contenía aproximadamente 10 g
10 de saponina pura añadida como alimento de fermentación a 30°C 2 horas antes de la autólisis. La tercera muestra contenía levadura de panadero de alta calidad con 202 g de hojas de remolacha azucarera secas y trituradas, que contenían aproximadamente 10 g de saponina pura añadida como alimento
15 de fermentación a 30°C 2 horas antes de la autólisis. La cuarta muestra incluía levadura de panadero de alta calidad con 70 g de extracto de saponina que contenía aproximadamente 20 g de saponina pura añadida como alimento de fermentación a 30°C durante 2 horas antes de la autólisis. Las muestras se
20 colocaron en un reactor de autólisis a 50°C y a un pH de 5.45-5.55. Las muestras se extrajeron del reactor a 24 y 48 horas en la autólisis. Se centrifugaron alícuotas de 50 ml de las muestras en una centrífuga a 3300 rpm durante 8 minutos. Las muestras centrifugadas tenían un pelletizado de pared

celular de levadura en la parte inferior del tubo y un líquido de extracto de fase ligera sobre la parte superior. El extracto de fase ligera se filtró a través de un filtro de tierra diatomácea y se analizó para determinar la
5 concentración de FAN.

Como se ve en la FIGURA 5, la serie de autólisis de 50°C mostró significativamente más FAN en el extracto de levadura a las 24 horas en la autólisis que la serie a 45°C a través de todas las condiciones de autólisis. Esto indica que las
10 temperaturas elevadas tienen un impacto significativo en la autólisis de las paredes celulares fúngicas. A las 24 horas, las muestras 2 y 3 suministraron aproximadamente la misma cantidad de saponina actual al experimento de autólisis y la concentración FAN incrementada sobre el control fue muy
15 similar a 30% y 32% respectivamente. Estos resultados indican que cantidades equivalentes de saponina, suministrada ya sea en forma de un extracto procesado o en su estado natural (hojas de remolacha azucarera secas y trituradas), tiene el efecto equivalente de incrementar la actividad autolítica sin
20 importar la fuente de saponina. La muestra 4 que poseía doble concentración de saponina en comparación con las muestras 2 y 3, y la concentración de FAN de la muestra 4 se incrementó 117% sobre el control (muestra 1), indicando que mayores concentraciones de saponina aumentan las velocidades de

autolisis.

Como se ve en la FIGURA 6, las muestras a 50°C tenían concentraciones FAN más similares sobre el intervalo de muestra en comparación con los experimentos a 45°C después de 5 48 horas de autolisis. Esto se debe a la liberación mejorada de los contenidos de las células de levadura en la solución del extracto a temperaturas más altas con y sin la saponina añadida. La FIGURA 6 indica también que la muestra 3, con aproximadamente la mitad de la cantidad de contenido de 10 saponina de la muestra 4, tenía cantidades similares de actividad autololítica como la de la muestra 4 después de 48 horas. La muestra 2 no se probó a las 48 horas, de manera que no se presentan datos para la muestra 2 en la FIGURA 6. Estos resultados indican que las concentraciones de saponina 15 incrementadas incrementan la velocidad de actividad autolítica de la levadura. Con referencia a la FIGURA 5, la muestra 4 fue esencialmente 99% completa a las 24 horas, mientras que las muestras 2 y 3 fueron solo 62% completas a las 24 horas. Sin embargo, después de 48 horas, la muestra 3 20 había experimentado esencialmente la misma cantidad de actividad autolítica que la muestra 4.

Como se indica por las pruebas, la adición de saponina al proceso de autolisis de levadura de panadero demostró aumentar eficazmente las velocidades de autolisis cuando hubo

una etapa de fermentación de pre-autólisis. Cuando se usa el extracto de saponina procesado o las hojas de remolacha azucarera secas y trituradas, se obtuvieron resultados similares para muestras que contenían las mismas cantidades de saponina sin importar la fuente de saponina. Aunque estos experimentos se llevaron a cabo bajo condiciones anaeróbicas, se esperan resultados similares bajo condiciones de procesamiento aeróbico. Las aplicaciones comerciales para este proceso pueden ser autólisis de levadura tradicional, producción de extracto de levadura, producción de pared celular de levadura y productos de paredes celulares, y productos de fermentación de saponina entre otros. Otras fuentes de saponina tales como, por ejemplo, como producto o subproducto de otras fuentes agrícolas tales como semillas de soya, cacahuates, diversas especies de ejotes, avena, espárragos, espinacas, alfalfa y diversas especies de árboles pueden tener el mismo efecto. Debido a la presencia de saponinas diferentes y exclusivas en estos diversos productos agrícolas, se espera que el uso de diferentes fuentes agrícolas para la saponina permita la producción de una variedad de diferentes productos de fermentación de autólisis y saponina. Sin importar la fuente de saponina, las cepas de hongos o de levadura que se exponen a saponinas durante la etapa de fermentación, responderán al tener las paredes

celulares debilitadas y velocidades y cantidades incrementadas de productos de autólisis que variarán en base a las condiciones de procesamiento y de la fuente de saponina.

5 Aunque se han ilustrado y descrito en la presente ejemplos específicos, se apreciará por los expertos en la materia que cualquier disposición calculada para conseguir el mismo propósito podría ser sustituida por los ejemplos
10 específicos mostrados. Esta solicitud pretende cubrir adaptaciones o variaciones de la presente materia objeto. Por lo tanto, se pretende que la invención sea definida por las reivindicaciones anexas y sus equivalentes legales.

15

20