

Rendimiento de manano en la corriente secundaria de obtención de β -1,3-glucano

Yield the Mannan in the Secondary Current of β -1,3-Glucano Obtaining Process

Ing. Diana R. Iglesias-Hernández, MSc. Raisa Rodríguez-Silva, Dr. C. Tania Pérez-Bueno,
Dr. C. Lilian Sánchez-Miranda, MSc. Zulema Pérez-Hernández
bueno@censa.edu.cu



Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Mayabeque, Cuba

● Resumen

Se evaluó el rendimiento de manano crudo presente en el sobrenadante básico de la corriente secundaria del proceso de obtención de glucano a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, conservado a temperaturas de 5 ± 3 °C y 27 ± 3 °C durante 90 días. Además, se determinó el contenido de carbohidratos totales y proteínas en esta corriente. Los mejores rendimientos se obtuvieron en el sobrenadante conservado hasta 45 días a temperaturas entre 2 y 8 °C y solo por 24 h a temperaturas entre 24 y 30 °C, pues a tiempos mayores se afectó significativamente el rendimiento con pérdida de las características del producto. No se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la evaluación de la concentración de carbohidratos totales y proteínas.

Palabras clave: glucano; manano; prebiótico; *Saccharomyces cerevisiae*.

● Abstract

The yield of the mannan obtained in the basic supernatant of the glucan process from *Saccharomyces cerevisiae* was evaluated. The basic supernatant was kept at temperatures of 5 ± 3 °C and 27 ± 3 °C during 90 days. The levels of carbohydrates and proteins were also determined. The best yields were obtained in the supernatant kept up to 45 days at temperatures from 2 to 8 °C, and for only 24 h at temperature from 24 to 30 °C. The yield and the product characteristics were significantly affected at higher times. No significant differences ($p < 0,05$) in the concentration assessment of the total carbohydrates and proteins were observed.

Key words: glucano; mannan; prebiotic; *Saccharomyces cerevisiae*.

● Introducción

Los prebióticos son calificados como ingredientes no digeribles de la dieta, que en unos casos estimulan selectivamente el crecimiento o actividad de una o varias especies bacterianas de la microbiota intestinal comensal, que a su vez provocan una mejora de la salud del animal, y en otros se piensa que actúan como receptores de anclaje de bacterias patógenas /1/. Estos componentes constituyen sustratos de elección para fomentar la "salud intestinal" y con ello, el logro de producciones más ecológicas, sin residualidad en las carnes y los huevos que finalmente serán

consumidos por seres humanos /2, 3/. Como efectos benéficos atribuidos a los prebióticos se pueden citar: la reducción de las dolencias cardiovasculares, la acción antitumoral, hipocolesterolemica, la modulación de la inmunidad innata y adquirida, entre otros /4-8/.

Entre los compuestos que cumplen con los criterios de prebióticos se encuentran: fructanos, oligosacáridos de glucano y manano (principalmente a partir de la pared celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*), lactulosa, lactitol, xiloglucanos y oligogalacturonidos /9-11/.

En el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria se obtiene un prebiótico constituido por Beta-1,3-glucano, polisacárido aislado de la pared celular de *S. cerevisiae*, que presenta probada actividad estimulante del sistema inmune /12, 13/.

En la extracción de glucano a partir de esta levadura se obtiene una corriente secundaria compuesta por manano y glucano álcali-soluble, constituyendo esta corriente secundaria la materia prima fundamental para la obtención del complejo fosfo-D-manano proteína, que junto al β -1,3-glucano son los compuestos principales en la pared celular de *S. cerevisiae* /14/.

Los manano proteínas son también componentes de importante acción biológica, tanto en los procesos a nivel intestinal, como moduladores del sistema inmune, estimulando el crecimiento y mejorando la eficiencia de conversión alimenticia /15, 16/. Debido a la significación del manano presente en la corriente secundaria de la producción de Beta-1,3-glucano, en el CENSA se han desarrollado

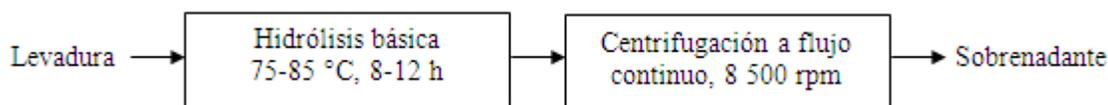
diferentes investigaciones para la obtención a escala de laboratorio y de planta piloto de manano crudo /17, 18/.

Dentro de la tecnología de obtención de un producto, se deben establecer las condiciones específicas de tiempo y temperatura de conservación de las materias primas y productos intermedios, que permitan la estabilidad en la calidad de estos materiales /19/. Por esta razón, el presente trabajo se propone determinar las condiciones de temperatura y tiempo de almacenamiento de la corriente secundaria de la producción de glucano, mediante las cuales se obtienen buenos rendimientos de manano crudo.

● Materiales y métodos

Obtención de manano crudo

Se realizó la hidrólisis básica de la levadura *S. cerevisiae* empleando el método descrito por Sánchez y col. /20, 21/ y a continuación la separación mecánica de la masa celular hidrolizada /22/ según el diagrama:



El sobrenadante producto de esta extracción se almacenó en frascos de cristal a las temperaturas de $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ y $27\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 3 meses, realizando su evaluación a los 0, 1, 7, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días. En cada tiempo de muestreo se realizó la obtención de manano crudo a partir del sobrenadante, según lo planteado /17, 18/, mediante la precipitación con solución *Fehling* y reprecipitación en etanol. Se calculó el rendimiento (R) de manano expresado según la fórmula 1, además se determinó el contenido de carbohidratos totales /23/ y de proteínas /24/.

$$R = \frac{\text{gramos de manano}}{\text{gramos de levadura seca}} \cdot 100 \% \quad (1)$$

Procesamiento estadístico de los resultados

Los resultados se procesaron estadísticamente mediante la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, para determinar la existencia o no de diferencias significativas entre los tiempos de evaluación, con un

nivel de confianza de 95 %, se utilizó el paquete estadístico *Statgraphics* (versión 5.1). Se emplearon tres réplicas de cada experimento.

● Resultados y discusión

Cuando se tratan las células de *S. cerevisiae* con soluciones calientes de hidróxido de sodio, se disuelven los mananos y glucanos solubles /25/, este método clásico de extracción con fuertes cargas de álcalis caliente degrada las bandas alcalilábiles obteniéndose un complejo fosfo-D-manano proteína de menor peso molecular que el aislado por extracción con agua, solución tampón de citrato o de fosfato de potasio /26, 27/. En el proceso que se evalúa en el presente trabajo, es inevitable la digestión básica ya que la materia prima de obtención de manano es el sobrenadante de la hidrólisis alcalina para la producción de β -1,3-glucano, el cual se caracteriza por un pH entre 13 y 14.

Al evaluar el rendimiento de manano crudo en los tiempos de muestreo, en los dos intervalos de temperatura propuestos, los mayores valores se obtuvieron para la temperatura de refrigeración de 2 a 8 °C durante 45 días de conservación del sobrenadante de la hidrólisis básica y hasta las 24 horas a temperatura ambiente de 24 a 30 °C (figura 1). No se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos seleccionados, comparados con la evaluación inicial,

para los rangos de temperatura definidos, tanto para el rendimiento como para el porcentaje de carbohidratos totales y proteínas.

González y Azahares /18/ luego de optimizar el proceso de obtención de manano, obtuvieron concentraciones de carbohidratos totales y proteínas superiores a 70 y 0,2 %, respectivamente, resultados cercanos a los que se obtuvieron en este trabajo, con rendimientos de manano crudo similares.

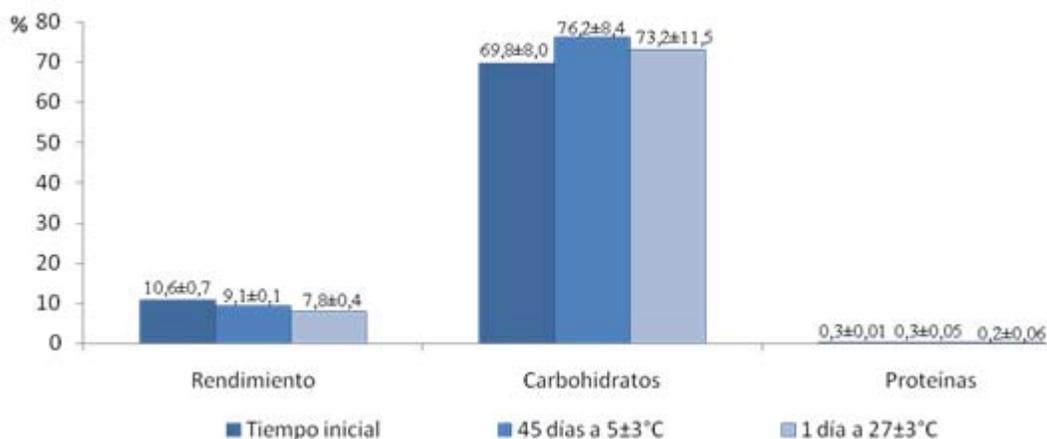


Fig. 1 Rendimiento de manano crudo y carbohidratos totales (sobrenadante al inicio y mayores valores obtenidos en las dos condiciones de temperaturas evaluadas).

En el caso de temperatura ambiente, se recomienda no mantener el sobrenadante básico por más de 24 h en almacenamiento, pues esto llevaría a una caída en el rendimiento de manano crudo de casi 70 %. Por otra parte, se observó que cuando el sobrenadante básico es mantenido en refrigeración, ocurre una precipitación parcial del complejo fosfo-D-manano proteína, por lo que se recomienda homogeneizar correctamente antes de la extracción del manano.



Conclusiones

El sobrenadante de la hidrólisis básica de la producción de β -1,3-glucano puede ser almacenado durante 45 días a temperaturas de 2 a 8 °C y hasta 1 día a temperaturas de 24 a 30 °C, sin afectación significativa del rendimiento de manano crudo presente en esta corriente secundaria.



Bibliografía

- SANTOMÁ, G.; PÉREZ DE AYALA, P.; GUTIÉRREZ DEL ÁLAMO, A. "Producción de pollos sin promotores del crecimiento. Conocimientos actuales". En: *XLIII Simposio Científico de Avicultura de la sección Española de la Asociación Mundial de la Avicultura Científica* [en línea]. Expoaviga, Barcelona, 2006. Disponible en Internet: <<http://www.wpsa-aeca.com/img/información/wpsa1161771886a.pdf>>.
- MORALES, R.; FRANCESCA, M.; BRUFAU, J. "Uso de paredes celulares de levadura en dietas para pollos con alto y bajo contenido de polisacáridos no amiláceos y su influencia sobre la productividad, la fisiología digestiva y la inmunidad". En: *14th European Symp. Poultry Nutr.* Lillehammer, Norway, 2003, p. 201.
- MORALES, R. *Las paredes celulares de levadura de Saccharomyces cerevisiae: un aditivo natural capaz de mejorar la productividad y la salud del pollo de engorde* [en línea]. Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, 2007. Disponible en Internet: <<http://www.tdx.cat/handle/10803/5689>>.

4. DAVIDSON, N.; DUGAN, L.; BURNS, J.; BONA, J.; STORY, K., *et al.* "The Hypocholesterolemic Effects of β -Glucan in Oatmeal and Oat Bran". *Am. Med. Assoc.* 1991, 265, p. 1833-1839.
5. KOCH, H.; ROPER, H. "Gromellan as an Immunostimulant and or Antitumor Agent". *European Patent Application.* 1991.
6. WATZL, B.; GIRRBACCH, S.; ROLLER, M. "Inulin, Oligofructose and Immunomodulation". *British J. Nutri.* 2005, 93, suppl. 1, p. 49-55.
7. AZORÍN ORTUÑO, M., *et al.* "Effect of Low Inulin Doses with Different Polymerization Degree on Lipid Metabolism, Mineral Absorption, and Intestinal Microbiota in Rats with Fat-Supplemented Diet". *Food Chemistry.* 2009, 113, p. 1058-1065.
8. CARVALHO, F.; THOMAS, J.; RIBEIRO, M.; FORTES, C. "Yacon como Alimento Funcional e Fonte de Prebiótico". En: F-FERREIRA C. (ed.). *Prebióticos e Probióticos.* Rio de Janeiro: Editora Rubio Ltda, 2012, p. 129-43.
9. DELZENNE, N. "Oligosaccharides: State of Art". *Proceedings of the Nutrition Society.* 2003, 62, p. 17.
10. ORTIZ, L.; VELASCO, S.; RODRÍGUEZ, M.; REBOLÉ, A.; ALZUETA, C. "Los Prebióticos tipo Inulina en alimentación aviar. II: Efectos Sistémicos". *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias.* 2011, 5, 1, p. 103-19.
11. UGARTE, M.; SCOLLO, D.; GIRAUDO, M.; MENÉNDEZ, J.; SÁNCHEZ, T. H. "Functional disaccharides: Lactulosa, Lactitol y Lactosa". *Actualización en Nutrición.* 2011, 12, 3, p. 216-223.
12. LAVIELLE, J. "Efecto del Glutave en la respuesta inmune humoral y el desempeño productivo de gallinas ponedoras y pollos de engorde". *Rev. Salud Anim.* 2007, 29, 3, p. 196.
13. PEDROSO, M.; LAVIELLE, J.; SOLER, D. M.; SÁNCHEZ, L. " β 1-3 glucano particulado lineal y otras formulaciones basadas en β glucano, su efecto en bovinos y aves". *Rev. Salud Anim.* 2012, 34, 2, p. 70-77.
14. RINSUM, J.; FRANS, M.; HERMAN, V. "Cell Wall Glucomannoproteins of *S. cerevisiae*". *Yeast.* 1991, 7, p. 717-726.
15. MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S. M.; ALMEIDA, J. G.; MACARI, M. "Utilização de Prebióticos, Probióticos ou Simbióticos em Dietas para Frangos". *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 2001, 3, 1, p. 75-82.
16. DAVIS, M. E.; MAXWELL, C. V.; ERF, G. F.; BROWN, D. C.; WISTUBA, T. J. "Dietary Supplementation with Phosphorylated Mannans Improves Growth Response and Modulates Immune Function of Weanling Pigs". *J. Anim. Sci.* 2004, 82, p. 1882-1891.
17. RODRÍGUEZ, L.; IGLESIAS, D.; SÁNCHEZ, L.; MARRERO, F. *Caracterización del proceso de laboratorio de obtención de manano.* Informe Final de Etapa. CENSA; 1993.
18. GONZÁLEZ, S.; AZAHARES, Z. "Obtención del complejo Fosfomanano Proteína. Optimización, Separaciones mecánicas y Escalado". Trabajo de Diploma. ISPJAE-CENSA, 1995.
19. CECMED. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. *Regulación No. 16. Directrices sobre buenas prácticas de fabricación de productos farmacéuticos.* República de Cuba, Ministerio de Salud Pública, 2006.
20. SÁNCHEZ, L.; NOA, M.; PEDROSO, M.; IGLESIAS, D.; MARRERO, F. "Beta (1-3) glucano a partir de *Saccharomyces cerevisiae*: Aislamiento y caracterización". *Rev. Salud Anim.* 1995, 17, 2, p. 9-17.
21. SÁNCHEZ, L.; RODRÍGUEZ, R.; PÉREZ, T.; MARRERO, F.; IGLESIAS, D., *et al.* "Factores de escalamiento para el proceso de producción de Beta (1-3) glucano, un polisacárido con actividad inmunomoduladora". *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ).* 2000, 15, 1, p. 42-47.
22. IGLESIAS, D.; MARRERO, F. "Selección de un separador centrífugo para la producción de un principio activo". *Rev. Salud Anim.* 1995, 17, 2, p. 201-205.
23. DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. "Colorimetric Method for the Determination of Sugars and Related Substances". *Anal. Chem.* 1956, 28, 3, p. 350-356.
24. LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. "Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent". *J. Biol. Chem.* 1951, 193, p. 265-275.
25. ZLOTNIK, H.; FERNÁNDEZ, M. P.; BOWER, D.; CABIB, E. "*S. cerevisiae* Mananoproteins from External Cell Wall Layer that Determines Wall Porosity". *J. Bacteriol.* 1984, 159, p. 1018-1126.
26. BALLOU, C. "Yeast Cell Wall and Cell Surface. The molecular Biology of the Yeast *Saccharomyces.* Metabolism and Gene Expression". *Cold Spring Harbor Monograph Archive.* North America, 11B, 1982, p. 335-360.
27. CAMERON, D.; COOPER, D.; NEUFELD, R. "The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an Effective Bioemulsifier". *Appl. Environ. Microbiol.* 1988, 54, 6, p. 1420-1425.