



ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña
de Azúcar

ISSN: 0138-6204

revista@icidca.edu.cu

Instituto Cubano de Investigaciones de
los Derivados de la Caña de Azúcar
Cuba

Suárez-Machín, Caridad; Garrido-Carralero, Norge Antonio; Guevara-Rodríguez, Carmen
Amarilys

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica
ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. 50, núm. 1, enero-abril, 2016,
pp. 20-28

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica

Caridad Suárez-Machín*, Norge Antonio Garrido-Carralero, Carmen Amarilys Guevara-Rodríguez

Instituto Cubano de Investigaciones sobre los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Vía Blanca No. 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba

*caridad.suarez@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

En este trabajo se muestra el estado del arte en cuanto a las principales características de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el proceso tecnológico para su obtención dentro de la producción de alcohol, la recuperación de levaduras y los principales factores a tener en cuenta para su crecimiento y desarrollo. El documento refiere la situación actual de la producción de alcohol y levadura en el mundo y en Cuba así como, las tendencias actuales de su uso. Debido a las condiciones, en las que se obtiene la *S. cerevisiae* en Cuba, que limitan el uso de esta levadura como alimento animal, se sugiere la necesidad, de diseñar una planta de recuperación de levadura *Saccharomyces* en nuestro país, que permita su utilización, no solo como nutriente sino además en la elaboración de productos con características probióticas.

PALABRAS CLAVE: levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, producción, alcohol y recuperación.

INTRODUCCIÓN

Los primeros microorganismos utilizados como fuente de proteínas, fueron las levaduras, principalmente la *Saccharomyces cerevisiae*, que aún hoy día es la principal fuente de proteína unicelular (SCP), como también se conoce a la proteína obtenida de la biomasa microbiana (1), con una producción de 200 000 t anuales en peso seco (2 - 4).

ABSTRACT

Present paper shows the state of the art about the main features of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, the technological process for its obtainment from alcohol-production recovery and the main factors to consider for growth and development. The document states the current status of the production of alcohol and yeast in the world and in Cuba, as well as the current trends in use. Because the conditions for *S. cerevisiae* production in Cuba, which limits the use of this yeast as animal feed, there is a need to design a recovery plant of *Saccharomyces* yeast in our country, which will allow the use is suggested of this yeast, not only as a nutrient but also in the development of products with probiotic characteristics.

KEYWORDS: yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, production, alcohol and resin.

La levadura *S. cerevisiae* es probablemente el microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo; aunque no se tuviera, en un principio, conciencia plena de la participación del microorganismo en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas (5 y 6).

El alcohol o etanol es el producto de la fermentación alcohólica efectuada por microorganis-

mos, que tienen la capacidad de fermentar la glucosa (7).

El desarrollo tecnológico alcanzado en la producción de levadura de panificación a finales del siglo XIX y principios del XX, permitió conocer a fondo los mecanismos biológicos de multiplicación de esta levadura y contar con el equipamiento necesario para su producción (8). Este trabajo se propone indagar sobre la producción de alcohol y levadura, así como las tendencias actuales de su producción en Cuba y el mundo.

Levaduras. Generalidades

Levadura es un nombre genérico que agrupa a una variedad de organismos unicelulares, incluyendo especies patógenas para plantas y animales, así como especies no solamente inocuas sino de gran utilidad (9).

Las levaduras han sido utilizadas, desde la antigüedad, en la elaboración de cervezas, pan y vino, pero los fundamentos científicos de su cultivo y uso en grandes cantidades fueron descubiertos por el microbiólogo francés Louis Pasteur en el siglo XIX (10 y 11).

Se conocen cepas diferentes y específicas para cada labor (panificación, destilería, producción de extractos de levadura y uso en animales) (12).

Las levaduras son organismos eucariotas con gran diversidad respecto a su tamaño, forma y color. Son consideradas hongos unicelulares y generalmente sus células son ovaladas, pero también pueden encontrarse en forma esférica, cilíndrica o elíptica. Son mayores que las bacterias, alcanzando un diámetro máximo de entre cuatro y cinco μm . Se reproducen por fisión binaria o gemação y algunas pueden ser dimórficas o bifásicas y crecen como micelio bajo condiciones ambientales especiales (13 y 14). Son resistentes a antibióticos, sulfamidas y otros agentes antibacterianos de forma natural. Se conoce la secuencia completa de su genoma y se mantiene en constante revisión, lo que ha permitido la manipulación genética de los casi 6600 genes que codifican el genoma de levadura (15).

Los constituyentes macromoleculares de las levaduras incluyen proteínas, glicoproteínas, polisacáridos, polifosfatos, lípidos y ácidos nucleicos (16). Su pared celular comprende entre 15 y 25 % de la masa seca de la célula y sus principales componentes son polisacáridos (80-90 %), esencialmente glucanos y mananos, con una menor contribución de quitina, además de proteínas y lípidos (17 y 18).

El contenido de proteínas en las levaduras varía entre el 40 y el 50 % de su peso seco y tienen

una excelente calidad en función de su perfil de aminoácidos esenciales (19 - 21).

La mayoría de las levaduras toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4,5 a 6,5. Son capaces de competir con la bacteria *Streptococcus bovis*, el principal productor de ácido láctico en el rumen, por azúcares solubles (22).

Las levaduras más estudiadas en el mundo son cepas provenientes de las especies: *Saccharomyces cerevisiae* (levadura panadera comercial), *Kluyveromyces fragilis* y *Candida utilis*. Estas especies son consideradas como aptas para el consumo humano o GRAS (por las siglas en inglés de Generally Recognized As Safe) (23).

Saccharomyces cerevisiae. Características generales

Saccharomyces cerevisiae, es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad; su nombre deriva del vocablo *Saccharo* (azúcar), *myces* (hongo) y *cerevisiae* (cerveza) (24). Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa (25). Puede aislarse con facilidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano.

Es un producto del proceso de producción de alcohol, que a su vez constituye una valiosa fuente de proteínas y vitaminas para la alimentación animal (26), citado por Solano y Carro (27) y (28). Por su parte García (29), destaca que en la formulación de piensos para aves y cerdos se emplea la levadura de recuperación de la fermentación alcohólica, por ser un componente rico en proteínas.

El uso más extendido está enmarcado en la panificación y en las industrias de fabricación de cerveza, vinos y alcohol. La levadura inactivada por temperatura se usa como fuente de nutrientes en alimentación animal y humana, tanto en forma de levadura íntegra como a partir de sus derivados (30 y 31).

Esta levadura es una de las especies considerada como microorganismo GRAS, por lo que ha sido aprobada para su uso como aditivo alimentario (32-34).

Se ha aseverado que la crema de levadura *S. cerevisiae* concentrada, alcanza valores de materia seca (MS) de 18-20 % y un contenido de proteína bruta (PB) de 32-36 % sobre base seca (35). Por otro lado, algunos autores (36) sostienen que la composición promedio de proteína verdadera es de 40,20 %, mientras que otros (37), registraron valores algo inferiores en el entorno de 39 %.

Tabla 1. Composición de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Componentes (%)	(36), cit. (38)	(37)	(38)	(39)
Polisacáridos	29,71	34,1	36	31,40
Trehalosa	NR	5	NR	NR
Ácidos nucleicos y nucleótidos	10,65*	10,8	7,41*	9,00*
Fosfolípidos	1,18	4,5	2,63	0,5
Triglicéridos	NR	2,5	NR	NR
Esteroles	NR	1	NR	NR
Ceniza	8,32	3,1	7,34	4,60
Proteína	40,20	39	44,7	42,67

Fte. (36 – 39). NR (No referido). *(Expresado en ARN)

Los principales componentes promedio que la integran según Otero y García (36, 37) citado por Otero y Yamada (38 y 39), se relacionan en la tabla 1.

Respecto a la composición de la levadura de recuperación de destilerías (40), se afirma que la variabilidad está en dependencia de las condiciones específicas de producción en cada fábrica de alcohol y de su régimen de operación.

Proceso tecnológico para la producción de alcohol y levadura *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura de recuperación de cerveza la componen las células inviables deshidratadas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* o *S. ovorum* en algunos casos (38). Esta levadura históricamente ha sido utilizada en la producción de alcohol con resultados satisfactorios (41).

García y Estévez (37 y 42), coinciden al describir el proceso de producción de alcohol por vía fermentativa a través de la conversión de hexosas en etanol según la siguiente ecuación:



La levadura, además de ser el elemento que cataliza la reacción, constituye un producto inevitable de la misma, pudiéndose disminuir su reproducción, pero no eliminarla totalmente (43 - 46).

La miel final es convertida de forma directa en hexosas, por la acción de la enzima invertasa, producida por la propia levadura en el transcurso del proceso (47 y 48).

La miel final de caña se diluye con agua, se ajusta el pH con ácido sulfúrico y se le añade nitrógeno y fósforo en forma de sales solubles.

La levadura proveniente de un cultivo puro de laboratorio se propaga mediante pasos sucesivos estériles en condiciones aeróbicas hasta obtener volúmenes de 1 a 2 m³

Se aumenta la biomasa en el pre fermentador con un volumen que oscila entre 10 y 20 % del fermentador. En esta etapa se añade miel con una concentración de azúcares de unos 100 g l⁻¹ en condiciones no estériles. Cuando la levadura se encuentra a mediados de la fase de crecimiento es inoculada en el fermentador, donde comienza la fermentación alcohólica en condiciones anaeróbicas con una concentración de azúcares de 150 a 160 g l⁻¹.

La levadura crece simultáneamente con la producción de alcohol por espacio de unas 20 horas. La velocidad de fermentación aumenta de forma rápida hasta alcanzar el máximo al término de las 15 horas. La producción de alcohol continúa entonces a una velocidad decreciente, concluyendo el ciclo de 24 a 30 horas de fermentación, para obtener una concentración final de alcohol de 6 a 7 % de volumen (37).

Recuperación de levadura

A lo largo del proceso de fermentación, la levadura se desarrolla prodigiosamente, constituyendo un producto muy valioso, tanto al ser recuperada para su empleo como alimento animal (en crema o seca) como para recircularla al proceso y reiniciar la fermentación (49).

Decisivo en la calidad de la levadura recuperable, es el modo de conducir el proceso fermentativo, el esmero con que se realicen todas las operaciones y la preocupación constante para evitar los errores (42).

Después de la fermentación, las levaduras son separadas por centrifugación y lavadas. Se pasan por filtros prensas o rotatorios para disminuir el contenido de agua, hasta obtener un producto de 68 o 70 % de humedad, conocido como levadura prensada, la cual se envasa en bloques o en forma granulada en sobres de nylon. Esta levadura se almacena bajo refrigeración.

La levadura seca activa, es otra variante de la levadura panadera y se utiliza en caso de no existir refrigeración o por requerirse períodos prolongados de almacenamiento. Consiste en secar la levadura en secadores de lecho fluidizado de atomización o al vacío. Se obtiene una levadura con 8 % de humedad que conserva su actividad biológica. El producto se envasa en recipientes herméticos.

Tanto la producción de levadura como la de etanol son reacciones exotérmicas, por lo que es necesario eliminar el calor desprendido en el transcurso de la fermentación y mantener la temperatura cerca del valor óptimo (33 a 34 °C); de lo contrario la temperatura aumenta hasta 40 o 42 °C con sensibles pérdidas en el rendimiento. Se considera un índice apropiado de liberación de calor el de 287 Kcal l⁻¹ de etanol formado.

En Cuba, actualmente la recuperación de levadura es solo como producto secundario de las destilerías y se considera que debido a la importancia nutritiva de este producto, se hace necesaria la implementación de tecnologías que mejoren la composición de la levadura y poder ampliar su perfil de uso.

Factores a tener en cuenta para el crecimiento y desarrollo de la levadura

Presión osmótica: la nutrición de la levadura es un proceso puramente osmótico, es importante evitar medios hipertónicos o hipotónicos para evitar la plasmoptosis y plasmólisis. El estrés osmótico puede causar una disminución en el volumen celular, afecta además, la velocidad de fermentación, así como la viabilidad celular (50).

Temperatura: las altas temperaturas ocasionan una disminución de la biomasa, producto de un descenso en el contenido de proteínas, RNA; DNA y aminoácidos libres e induce a la rigidez de la membrana celular. Temperaturas muy bajas provocan un estado de latencia en la célula, deteniendo su desarrollo (51).

Desecación: es uno de los principales agentes que inhiben las actividades y desarrollo de los microorganismos.

Luz: en general la luz es perjudicial para los microorganismos que carecen de clorofila, o cualquier otro pigmento que les permita usar la energía de las radiaciones en el proceso de fotosíntesis.

pH: el pH óptimo en el cual se desarrollan mejor los microorganismos, está entre 4 y 5. Las levaduras tienen la ventaja de soportar, medios más ácidos, que otros microorganismos, lo que es aprovechado en los procesos industriales para mantener el medio controlado de bacterias que puedan competir por el sustrato (52 y 53).

Alcohol: el efecto del etanol en la célula es una combinación de inhibición del crecimiento y disminución de la viabilidad, puede actuar como inhibidor de la fermentación a partir de un 8 %. Riegel (54) afirma, que no es recomendable terminar la fermentación con un grado alcohólico muy elevado.

Influencia de las condiciones de cultivo en la producción de alcohol y levadura

Las diferentes respuestas que se han observado en el metabolismo de la levadura *S. cerevisiae*, cuando se cultiva bajo distintas concentraciones de glucosa y oxígeno disuelto, pueden ser explicadas por la saturación de la oxidación del NADH a nivel de la cadena respiratoria (55), e influyen en la acumulación de compuestos de reserva en la levadura.

El hombre puede intervenir en los parámetros productivos, pudiendo, dentro de un proceso, reducir y hasta eliminar la fase de crecimiento celular. Esto ocurre en el proceso, por ejemplo, como el de "Melle - Boinot ", donde la recirculación de las levaduras (crema de levadura) desde las separadoras centrífugas, permite una inoculación del mosto, prácticamente ideal (42).

La productividad típica de un proceso discontinuo clásico en batch es de 1,8 a 2,5 g de etanol por litro de fermentador en una hora. Esta productividad puede aumentarse de manera sensible si se recircula la levadura producida en el fermentador o se emplea la fermentación continua. En estos casos los valores típicos se encuentran entre 5 y 8 g de etanol por litro de fermentador por hora.

Hutkins (56), aseguró que la fermentación continua aumenta la eficiencia química del proceso, obteniéndose mayores cantidades de etanol, refiriendo que los métodos de fermentación continua se empezaron a patentar en la década de los 50 y desde entonces han hecho que la industria de las bebidas alcohólicas haya experimentado un crecimiento apreciable.

Estévez (42) afirmó, que cuando se utiliza la fermentación continua, se elimina el llenado y vaciado de los fermentadores y también la necesidad de controladores, equipos de enfriamiento, etc., que son instalados solamente en los fermentadores donde hay necesidad de hacerlo, eliminando con esto la ociosidad y el costo de inversión, mientras que el riesgo de contaminación se incrementa, por lo que se requiere mayor esterilidad en el proceso.

En una fábrica de São Joáo, Brasil, se alcanza una productividad global de 6,41 m³.h de alcohol en fermentadores de 350 m³ en una fermentación continua en simple etapa con recirculación (57).

En la actualidad se han realizado estudios de cinética para la producción de etanol utilizando

la levadura *S. cerevisiae* (57), donde se han registrado valores de 50,5 g/L a las 24 h, partiendo de 100 g/L con un rendimiento del 97,2 %, en condiciones de fermentación, que han permitido conocer el tiempo en el que se consume el sustrato, así como la producción de etanol.

En el proceso de producción de levadura, debe tenerse especial cuidado en el control estricto de la oxigenación, debido a la tendencia de este microorganismo a desviar su metabolismo hacia la producción de etanol en condiciones de anaerobiosis. Este comportamiento puede evitarse si se propaga en modo *fed batch* en el que los azúcares se suministran al medio a través de un programa que garantiza bajas concentraciones de sustrato todo el tiempo (58).

Cuando el proceso de producción de alcohol se realiza de manera eficiente, es posible obtener alrededor de 30 kg de crema de levadura, con 20 % de concentración en volumen/hectolitro de alcohol que se produzca (59).

Situación actual de la producción de alcohol y levadura *S. cerevisiae*

Los dos principales productores de alcohol, son Estados Unidos y Brasil, que juntos producen el 70 % del total producido a nivel mundial (Estados Unidos a partir del maíz y Brasil de la caña de azúcar), seguidos por China, India y Francia (60). Incentivos del mercado han provocado el desarrollo de crecientes industrias en países como Tailandia, Filipinas, Guatemala, Colombia y República Dominicana y en Europa, tanto Alemania como España han incrementado considerablemente su producción de etanol, pero los porcentajes siguen siendo pequeños comparados con los de Brasil y Norte América (61).

La producción de levadura *S. cerevisiae*, en algunos de estos países ha estado en correspondencia con la producción de alcohol, sin embargo, muchos de ellos no recuperan levadura para fines alimenticios, sino que la recirculan al proceso de producción de alcohol (62).

Brasil utiliza dentro de su tecnología, el sangrado de la levadura, al respecto Andrietta (63), plantea que esto es una estrategia inteligente y rentable, que evita la acumulación excesiva de la masa celular. La sangría, ayuda a mantener una concentración estable de las células en el proceso, evitando así un aumento en el volumen de fermentación a ser tratado, lo que mejora las condiciones del tratamiento ácido, disminuyendo el consumo de ácido sulfúrico y consecuentemente la acidez de la fermentación, además permite el control de la edad promedio de las células de levadu-

ra, manteniendo la población joven en el proceso.

La crema de levadura sangrada, es sometida a un proceso llamado fermentación endógena, donde por las condiciones estresantes, la levadura consume sus propias reservas de carbohidratos y como consecuencia de este fenómeno, aumenta la composición de proteína celular, haciéndose necesaria, antes de secar la levadura, la desalcoholización de la crema que puede ser realizada por destilación o lavado.

En la producción de levaduras, Cuba, durante el período de 1975 a 1990, con la instalación de 10 fábricas, fue capaz de alcanzar, en conjunto, más de 120 000 toneladas por año (6), producción que difiere mucho de la situación actual, debido a que en las destilerías, la recuperación de levaduras está limitada al fondaje excedente en los fermentadores, cuestión que afecta no solo la cantidad de levadura, sino también su calidad.

La figura 5 muestra la producción de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, para alimento animal, en los últimos 10 años, según datos obtenidos de la Dirección de Derivados de Azcuba.

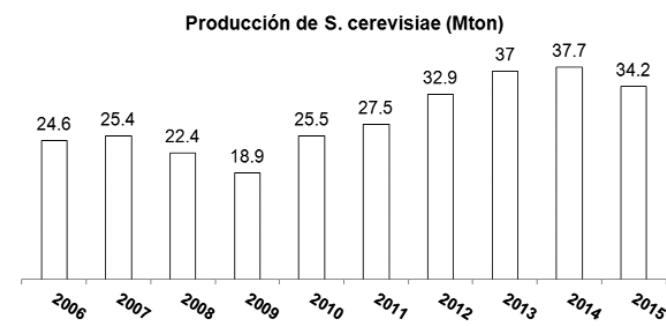


Figura 1. Producción de levadura *S. cerevisiae* para alimento animal en los últimos 10 años. Fuente: Dirección de derivados de Azcuba.

Tendencias actuales del uso de levadura *S. cerevisiae*

Las levaduras se emplean actualmente para la producción comercial de cantidades relevantes de alcohol dehidrogenasa, gliceraldehído-3-hidrogenasa, hexoquinasa, lactato hidrogenasa, glucosa-6-fosfato hidrogenasa, así como Coenzima A, nucleótidos difosfopiridinos y mono, di y tri-fosfatos de adenina, guanina, citidina y uridina, citado por Otero (38, 64). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la fuente tradicional de invertasa, que tiene un apreciable significado comercial y se emplea en modo creciente en la producción de bebidas, en la industria repostera y en la agricultura, así como para fines investigativos y tecnológicos (38).

Debido a la propiedad de las levaduras de acumular cantidades variables de los minerales presentes en su medio de cultivo, el contenido de minerales de células de levadura, cultivadas en un medio particular de propagación, puede ser ajustado para resultar de significación como suplemento de salud o nutricional para animales y humanos. Al respecto Otero (65) planteó que los microorganismos son capaces, en general, de incorporar a su biomasa cantidades apreciables de minerales aun cuando no los necesiten para su funcionamiento, pudiendo ser empleadas como levaduras enriquecidas (38).

Un ejemplo de esta técnica, que ha recibido especial atención desde alrededor del año 2000, es el empleo de levaduras para obtener selenio orgánico que será empleado como suplemento alimenticio debido a su similitud con la forma en que este elemento se encuentra en la naturaleza (66).

El uso de las levaduras como probióticos es ampliamente utilizado en la alimentación de los rumiantes y presentan buenas perspectivas de futuro en la UE, ya que constituyen una de las alternativas más válidas al uso de aditivos antibióticos tras su prohibición en el año 2006 (67).

Por otro lado, los esfuerzos que se han hecho para emplear las levaduras como suplemento seco en dietas animales y humanas con la finalidad de combatir el hambre y aumentar la productividad no han dado los resultados esperados (68).

Chacon (69) afirma que el problema está en el hecho de que un nuevo alimento no solo debe ser nutricionalmente valioso, sino que además debe ser organolépticamente satisfactorio y económicamente rentable. Estos dos apartados son el "talón de Aquiles" de la SCP (proteína unicelular o levaduras) y a la vez el reto del profesional en alimen-

tos. Por otro lado asegura, que es un hecho que en el comercio y la industria, donde las fuerzas de mercado operan, la proteína unicelular no encuentra aún un nicho competitivo y que bajo las condiciones actuales deben ejecutarse sustanciales mejoras en todos los sentidos para que las levaduras puedan llegar a ser competitivas con otras fuentes de proteína más atractivas como la soja, la alfalfa o la harina de pescado, coincidiendo con Otero (38), al asegurar que para lograr el establecimiento de una industria a partir de las potencialidades de las levaduras, es preciso un equipo de investigación y desarrollo comprometido en diferentes áreas como fisiología de levaduras, biología molecular, tecnología de fermentación y propagación y dado el caso, en nutrición animal y humana.

Actualmente, debido a la escases del petróleo y los precios en alza del mercado, se está convirtiendo en un hecho cada vez más importante el replantearse la posibilidad de utilizar alcohol como combustible. Así, en la actualidad son varios los países que están estudiando el empleo del etanol, obtenido de la biomasa, como combustible, bien como componente único, o en mezclas con gasolinas.

CONCLUSIONES

Las condiciones, en las que se obtiene la *S. cerevisiae* en Cuba, limitan el uso de esta levadura, por lo que se sugiere la necesidad, de diseñar una planta de recuperación de esta levadura, que permita su utilización, no solo como nutriente sino además en la elaboración de productos con características probióticas para animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quiao, S. Production of single cell protein with waste liquid from beet molasses alcohol fermentation. (2015) (en línea). Consultado dic. 2015. Disponible <http://www.e-foodtech.net/english/abstract/show.asp?it=9>.
2. Biocity. Levaduras. (2003). (En línea). Consultado noviembre 2015. Disponible <http://biocity.iespana.es/biocity/micro/leva.htm>
3. Chicas, M.; Porras, A. y Soto, S. Producción de proteína unicelular a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando un medio elaborado con banano (2003). (en línea). Consultado diciembre de 2015. Disponible <http://www.it-cr.ac.cr/carreras/biotecnologías/trabajos-de-investigación/producción-proteína-unicelular.htm>
4. FAO. Single cell Protein. (2015) (en línea). Consultado diciembre de 2015. Disponible <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/AFRIS/Data/734.htm>
5. Aranda, J.S.; Salgado, E.; Taillandier, P. Trehalose accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* cells: experimental data and structured modeling. Biochem. Eng. J. 17(2): 129 - 140 (2004).
6. Almazán, O.A. Historia de la levaduras en: (M.A. Otero, J.R. Wagner, I. Guerrero Legarreta, eds) Las levaduras y sus productos derivados como ingredientes en la industria de alimentos". Universidad

- Nacional de Quilmes, Serie Nuevos Enfoques en Ciencia y Tecnología ISBN 978-987-558-156-2. (2008).
- 7. Cabello, A. "Los sistemas agroalimentarios actuales y la caña de azúcar. Un análisis comparativo". Edit. ICIDCA, La Habana. (2002)
 - 8. Cabello, A. Las Levaduras como alimento animal. En: Las levaduras. Realidad y potencialidades (Otero, M.A ed) pp. 99-113. <http://www.undp.org>. (2005).
 - 9. González, A.; Valenzuela, L. *Saccharomyces cerevisiae*. La levadura *Saccharomyces cerevisiae*: un modelo de estudio desde hace más de cien años. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM. Cuerna-vaca, Mor. Editores: Dra. Esperanza Martínez Romero y Julio César Martínez Romero. (2003).
 - 10. Pelizer, L.H. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. Journal of food engineering. 56(4), p. 371-375. (2003)
 - 11. Hernández, E.; Maza, E.; Lozano, N. Producción de proteína unicelular mediante cultivo continuo de levadura en suero de leche desproteinizado. Revista de la Facultad de Agronomía. 5(2). P. 468-477. (2003).
 - 12. Alvarado, E. Engormix.com Beneficios del uso de levaduras en rumiantes ¿Mito o realidad? Lesaffre Feed Additives. Heredia, Costa Rica. (2011).
 - 13. Ochoa, J.L.; Vázquez, R. Las levaduras marinas como herramientas científicas y biotecnológicas. Número Especial I, 39-50. (2004).
 - 14. Pérez, H. Evaluación y selección de cepas de levaduras con características probióticas para uso como aditivo alimentario. Tesis presentada en opción del Título Académico de Maestro en Ciencias Microbiológicas Mención en Fermentaciones. La Habana. (2007).
 - 15. Bergogne, E. Impact écologique de l'antibiothérapie. Place des microorganismes de substitution dans le contrôle des diarrhées et colites associées aux antibiotiques. Presse Méd. 24: 145-56. (1995).
 - 16. Walker, G.M. Yeast physiology and biotechnology, John Wiley and Sons (ed.), Chidester. Arkansas. EE.UU. (1998).
 - 17. Zinser, E.; Daum, G. Isolation and biochemical characterization of organelles from the yeast *S. cerevisiae*. Yeast 11: 498-636. (1996).
 - 18. Rojas, A. Obtención de proteína unicelular a partir de residuos de destilería. Proyecto de graduación. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. Costa Rica. (1995).
 - 19. Otero, M.A.; Vasallo, M.C.; Verdecia, O.; Betancourt, D. Obtención de aditivos alimentarios a partir de levadura panadera Ciencia Tecnol Aliment 5 (1-2) 62 (1995).
 - 20. Chacón, A. Perspectivas actuales de la proteína unicelular (scp) en la agricultura e industria. Agronomía mesoamericana 15(1): 93-106. (2004).
 - 21. Valinote, A.C. Uso de Cultivos de levadura en la nutrición animal. Alltech Brasil. Sitio argentino de Producción Animal. (2011). Disponible en <http://www.produccion-animal.com.ar>. Consultado, diciembre 2015.
 - 22. Chaucheyras, F.; Millet, L. y Michalet, B. Effect of the addition of LEVUCCELL *Saccharomyces cerevisiae* on the rumen microflora of sheep during adaptation to high starch diets. In: Proc. of Evol. of the Rumen Microbial Ecosyst. 20-21, Chesson, A.; Stewart, CS. and Flint, HJ. (eds), RRI-INRA Rumen microbiology Symposium, Aberdeen (UK). (1997).
 - 23. Anon, A. Nova norma paulista para vinhaça Norma Técnica CETESB - P4.231 (Versão Janeiro/2005) Vinhaça - Critérios e Procedimentos para Aplicação no Solo Agrícola. (2005).
 - 24. Hernández, D.R. Efecto de un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en consumo, digestibilidad y variables ruminales en borregos alimentados con pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) cosechado a dos intervalos de rebrote. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Posgraduados, Montecillo Méx.74 p. (1999).
 - 25. Querol, A. Molecular evolution in yeast of biotechnological interest. Int. Microbiol. 6: 201-05. (2003).
 - 26. Figueroa, V. Producción porcina con cultivos tropicales y reciclajes de nutrientes. Ed. Academia. La Habana. Cuba. 192 pp (1996).
 - 27. Solano, G.; Cobos, V.; Fernández, J.L.; Ramírez R; Cabrales, D. Elaboración y evaluación de subproductos industriales para la alimentación animal. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 35, No. 4. ISSN: 0034-7485 (2001).
 - 28. Carro, M.D.; Ranilla, M.J., Tejido, M.L. Utilización de aditivos en la alimentación del ganado ovino y caprino. Sitio argentino de producción 3: 26-37. (2006).
 - 29. García, J.; Sáenz, T. Levadura *Saccharomyces*. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. Tercera Edición. Capítulo 4.12, pág.239-242. (2000).

30. Leimer, K.H; Finguerut, J. Alternatives for the use of dried yeast and its products. Proceedings of the XXVth Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists. (Hogarth, DM ed) ATAGUA, Guatemala City, Guatemala. (2005)
31. Belcher, A. The world looks to higher technology to advance fuel ethanol production into the 21st Century Int Sugar J 103 (1275):196-199. (2005)
32. Boyle, R.J.; Roy, M.R.; Tang, M.L. Probiotic use in clinical practice: What are the risks? Am. J. of Clin. Nutr. 83: 1256-64. (2006).
33. Anadon, A.; Martínez, M.R.; Martinez, M.A. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. Regulatory Toxicol and Pharmacol. 91-95. (2006).
34. Coenen, T.M. Safety evaluation of lactate enzyme preparation derived from *Kluyveromyces lactis*. Food Chem. Toxicol. 38: 671-77. (2000).
35. Garrido, N.; Santiesteban, C.M. Mosto concentrado de residuos alcohólicos. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. ICIDCA. Tercera edición. Capítulo 6.2, pág.413 - 416. (2000).
36. Otero, M.A. Proteína unicelular para el consumo humano (Luis O. Galvez ed) Editorial Científico-Técnica, La Habana, Cuba (1989).
37. García, J; Suarez, M. A; Domenech, F.L; Blanco, G.C; Santiesteban, C.M. a Levadura *Saccharomyces*. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. Tercera Edición. Capítulo 4.1, pág.197 -201. (2000).
38. Otero, M.A., Almazán, O.A. Las levaduras como base de una industria. Diferentes aplicaciones Editorial Académica Española, LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG. Heinrich-Böcking-Str. 6-8 D - 66121 Saarbrücken ISBN 978-3-659-02736-9 (2012)
39. Yamada, E.A.; Alvim, I.D.; Sgabieri, V.C. Composição centesimal e valor protéico de levedura da fermentação etanólica e seus derivados Rev Nutr, Campinas 16 (4): 423-432. (2003)
40. Otero, M.A. Levaduras residuales. En: Las levaduras. Realidad y potencialidades (Otero, M.A ed) pp. 87-98. <http://www.undp.org>. (2005).
41. Saura, G.; Martínez, J.A. Valdés, I. Memorias de VI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña, La Habana, junio 13-16. (2000)
42. Estevéz, R.E. Fermentación y destilación alcohólica. Conferencia ICIDCA. (2015).
43. Waites. Y. Industrial Microbiology. An Introduction. 7ma Ed. Microbial Biomasa Production, cap. 14, p. 218-228. (2008).
44. Nduka, Okafor. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology. Single cell protein. Cap.15, Yeast production, cap.16 p. 293-314. (2007).
45. Ingraham, J. Introduction to Microbiology. Industrial Microbiology 2da ed. Cap.29. p. 784-798. 2000.
46. Tortora, G. Funke, B. and Chase, C. Microbiology. An Introduction. Industrial Microbiology. 7ma ed. Cap.28. p.771-786. 2001.
47. Santiago, D.S. Estudio de sustratos disponibles para la obtención de bioetanol. 5º Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras, Campos de Jordao, Sao Paulo, Brasil. (2005).
48. Peña, C.; Arango, R. Evaluación de la producción de etanol Utilizando cepas recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de melaza de caña de azúcar. Dyna, Nro. 159, pp. 153-161. ISSN 0012-7353. Medellín, Colombia. (2009)
49. Estévez, R.E. Proyecto de recuperación de levadura *Saccharomyces* para mezcla pienso líquido y secado de levadura torula. Tarea tecnológica conceptual. AZCUBA. (2010)
50. Seo, J.S. *et al.* Nat. Biotechnol. 23, 63-68 (2005).
51. Tomasso, M. Tolerancia de las levaduras al etanol. Universidad de la República Uruguay. Facultad de Química (2004).
52. Beltran, G.; Torija, M.J.; Novo, M.; Ferrer, N.; Poblet, M.; Guillamon, J.M. Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study, Systematic and Applied Microbiology, 25: 287-293, (2002).
53. Lee, W.; Janson, P.h. Brew Chem 101. Storey Publishing; ISBN 0-88266-940-0 (1996)
54. Riegel, E.R.; Kent, J.A. Riegel's Handbook of Industrial Chemistry Ed. Springer Verlag. ISBN 0-306-47411-5 (2003)
55. Barrera, I.; González, R.A.; Salgado, E.; Aranda, J.S. A simple metabolic flux balance analysis of biomass and bioethanol production in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch cultures, Biotechnol. Bioprocess Eng. 16 (1):13-22. (2011).
56. Hutzins, R.W. Microbiology and Technology of Fermented Foods. Ed. Blackwell Publishing. (2006).
57. Valdés, A.; Bruno, D.; Mota, A. M.; Cristóbal, N.; Aguilar, C.N.; Ilina, A.; Teixeira, J.A.; Ruiz, H.A. Cinética para la producción de bioetanol usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* pe-2 para su

- escalamiento en reactores en Columna y gas-lift. XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Guadalajara. México. (2015).
58. Saura, G. Comunicación personal. ICIDCA. (2015).
59. Estévez, R.E. Comunicación personal. ICIDCA. (2012).
60. Howard, A.G.; Raymond, J. Fermented Beverage Production", Ed. Springer Verlag, ISBN 0-306-47706-8. (2003).
61. Mercado, C. Rendimiento de etanol y producción de vinaza con cuatro sustratos para la fermentación de melaza con *Saccharomyces cerevisiae*. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Zamorano, Honduras. 34p. (2006).
62. Garrido, N.A. Comunicación personal. (2016).
63. Andrietta, S.R. Sobre Recuperación de Levadura. ¿Por qué sangrar la levadura? (2009). vendas@conmaq.com.br. [Consultado en enero de 2016]
64. Athanasios, A.K. Yeasts. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Fifth Edition. Eds. B. Elvers and S. Hawkins. DOI: 10.1002/14356007.a28_461. (2000).
65. Otero, M.A. Adsorción de metales solubles por las células microbianas y sus componentes Sobre los deriv 34 (3):43-50. (2000).
66. Schrauzer, G. Selenium yeast: composition, quality, analysis, and safety. Pure Appl Chem 78:105-109. (2006).
67. Carro, M.D; Saro, C; Mateos, I.; Díaz, A.; Ranilla, M.J. Empleo de probióticos En la alimentación de Rumiantes. Departamento de Producción Animal, Universidad Politécnica de Madrid. España. (2015).
68. Israelidis, C. Single cell protein nutrition, twenty years later (en línea). Consultado enero, 2016. Disponible <http://business.hol.gr/~bio/HTML/PUBS/VOL1/isreali.htm>. (2003).
69. Chacón, A. Perspectivas actuales de la proteína unicelular (scp) en la agricultura e industria. Agronomía mesoamericana 15(1): 93-106. (2004).
-