



INSTITUTO DE BIOLOGÍA
FUNCIONAL Y GENÓMICA



CSIC

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



**VNIVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



800 AÑOS

VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

COLABORACIÓN CON EMPRESAS CASOS DE ÉXITO

Mercedes Tamame González, IBFG

Jornada "Colaboración Universidad - Empresa en el Sector Agroalimentario"

7 de Marzo de 2017, CIALE. Universidad de Salamanca



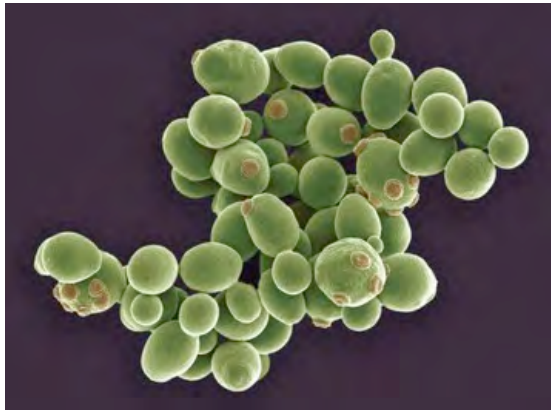
ASOCIACIÓN DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA DE CASTILLA Y LEÓN





INSTITUTO DE BIOLOGÍA
FUNCIONAL Y GENÓMICA

DE LA INVESTIGACIÓN BÁSICA Y APLICADA CON LEVADURAS A LA COLABORACIÓN CON GRANDES Y MEDIANAS EMPRESAS DEL SECTOR DE LA PANIFICACIÓN



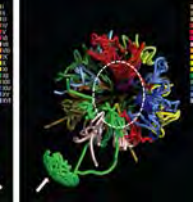
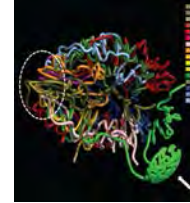
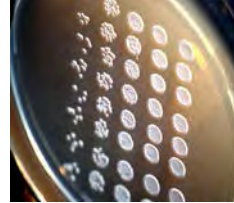
ANTECEDENTES

- INNPACTO PROPAN (2012-2015)
- RETOS-COLABORACIÓN INNOSTARPAN (2015-2018)



VNIVERSIDAD
D SALAMANCA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL





1990-2012

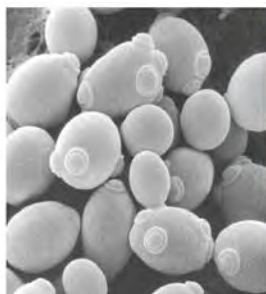
8 Proyectos de **I**nvestigación **B**ásica de Excelencia: Regulación génica

9 Proyectos de **I+D** : Mejora genética de levaduras de panificación

- | | | |
|---|---|------------------|
| 1. Caracterización genética y bioquímica de cepas de levadura que se utilizan en la industria con fines alimenticios | C.D.T.I. y CGL | 1990-1991 |
| 2. Caracterización bioquímica y mejora genética de cepas industriales de levadura de panadería | JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN | 1992-1994 |
| 3. Desarrollo de nuevas cepas de levadura para la industria alimentaria. | PETRI94-0022 CICYT y A.B. MAURI | 1995-1996 |
| 4. Mejora de las propiedades de levaduras panaderas para la fermentación de productos de panadería o como aditivo alimentario | PTR95-0198 CICYT y A.B. MAURI | 1997-1998 |
| 5. Mejora de las propiedades del pan y del vino mediante modificación de las levaduras que intervienen en los procesos de producción. | FEDER1FD97-0820 | 1999-2002 |
| 6. Modificación genética dirigida de levaduras panaderas y valoración de sus efectos en la producción de biomasa y en la fermentación | JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN | 2000-2004 |
| 7. Cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> mejoradas genéticamente para la elaboración de productos de panadería | PTR95-1010 CICYT y A.B. MAURI | 2006-2008 |
| 8. Mejora de la producción de aminoácidos, la tolerancia a estrés y lo sustratos de crecimiento de levaduras panaderas | PET 2008-0283 CICYT y AB. MAURI | 2009-2011 |
| 9. Mejora de propiedades del pan mediante modificación genética de levaduras panaderas | CSI007A10 JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN | 2010-2012 |



1990-2012



UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



3 Proyectos **I+D+i** en levaduras etanológicas y vnicas

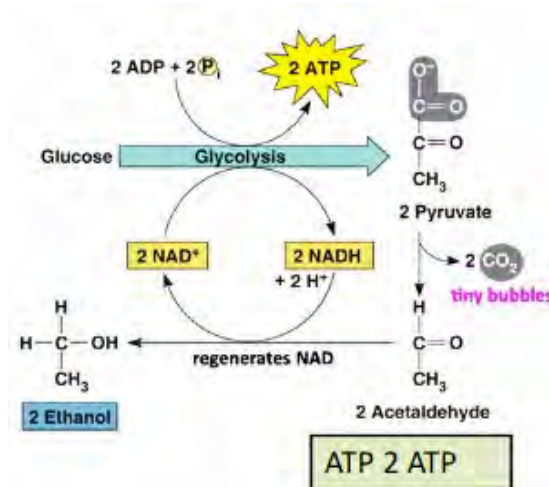
1. Optimización del proceso de obtención de etanol a partir de biomasa
ABENGOA, IBFG CSIC/ UNIVERSIDAD DE SALAMANCA **2010-2012**
2. Modificación genética de levaduras para producir olefinas de valor para biofuels
ABENGOA, IBFG CSIC/ UNIVERSIDAD DE SALAMANCA **2013-2015**
3. Identificación y selección de levaduras en vinos fermentados a baja temperatura
Bodegas YLLERA, UNIVERSIDAD DE SALAMANCA, **2011**

1. FERMENTACIÓN DE HARINAS POR LEVADURAS PURAS O POR MASAS MADRE

Levadura comercial



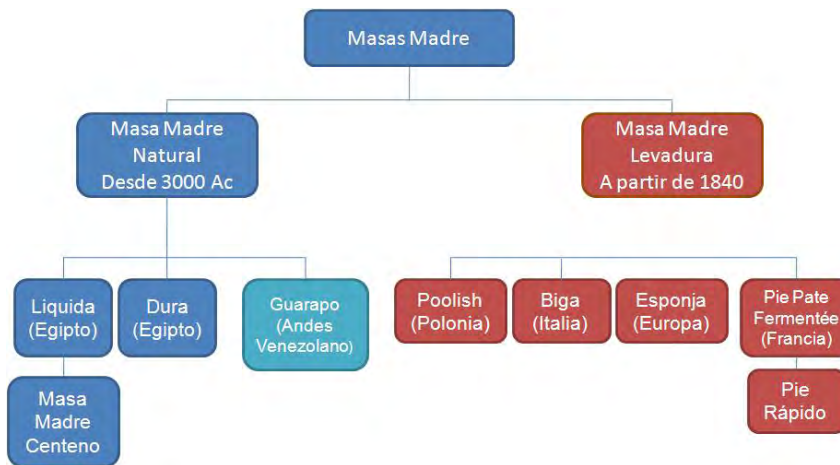
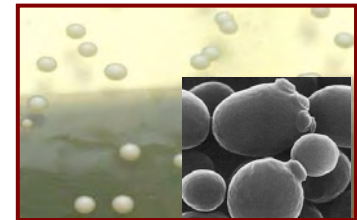
Saccharomyces
Híbridos 2n/4n/6n



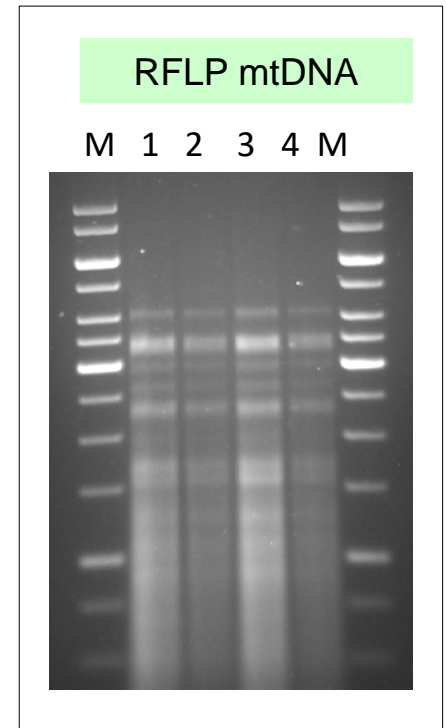
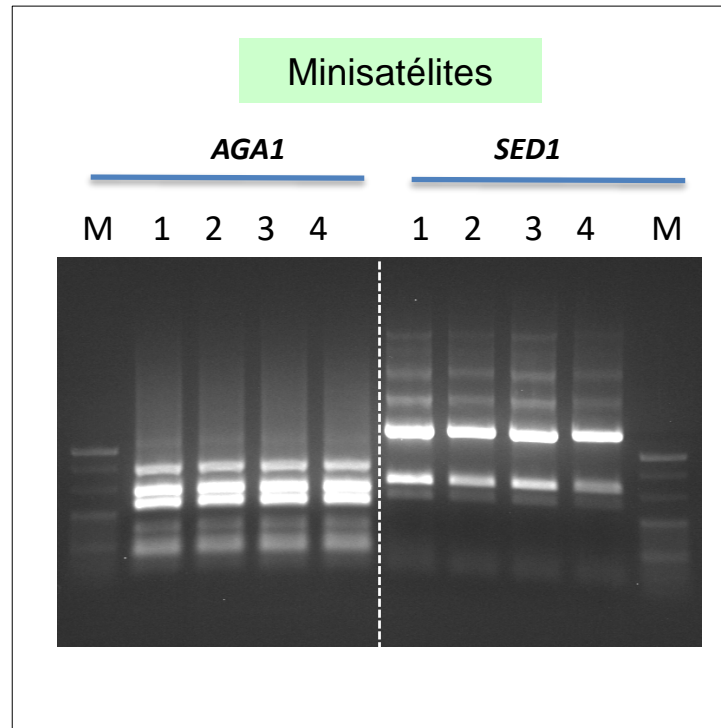
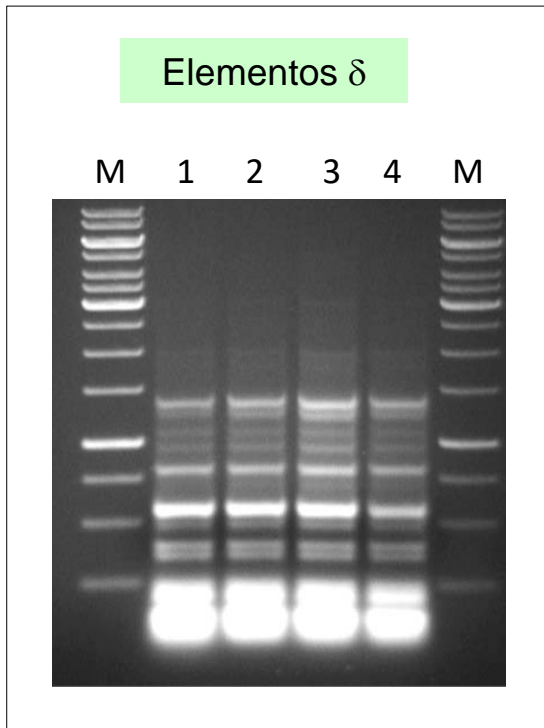
Masas madre



BAL y levaduras



2. HOMOGENEIDAD GENÉTICA DE LEVADURAS DE PANIFICACIÓN COMERCIALES



(Lesaffre, AB Mauri Food)

3. Influencia de las MM naturales sobre las características de las masas y del pan

Fermentativas



- Aumenta el volumen de gas producido, de gas retenido y el volumen final en el horno.
- Pan de mayor volumen.

Reológicas



- El tiempo de amasado se reduce (Farinógrafo).
- Disminuye la tenacidad y reduce la extensibilidad de la masa.(Alveógrafo).
- Aumenta la energía total absorbida al estirar la masa (Extensógrafo).

Productos alimenticios



- **Moléculas y propiedades beneficiosas que aportan LEV y BAL**
- Más larga duración tiernos
- Miga más cremosa y con las paredes de los alveolos más elásticos, con menos tendencia a desmoronarse.
- Aroma y sabor característicos, acentuados a causa de la formación de sustancias orgánicas volátiles y de productos aromáticos.
- Mayor digestibilidad y asimilación del producto horneado, por la formación de moléculas más simples, facilitando la labor del aparato digestivo.



Levadura comercial

- Panificar harinas más flojas, mayor rapidez y más económico,
- Productos muy similares, menos sabrosos, nutritivos y duraderos.





¿Aportaciones de la Microbiología y Genética a I+D+i en panificación?

Generar Conocimiento, Empleo y Aplicaciones Tecnológicas

ibfg **UNIVERSIDAD DE SALAMANCA** **800 AÑOS**

Genética y fisiología de levaduras del pan **Metabolismo de levaduras**
Identificación de microorganismos

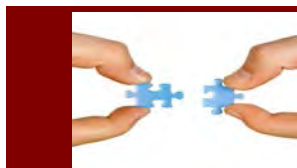
CSIC
Proyecta
lanpro

agrasys
tritordeum

gruplasem **atrian BAKERS** **Aplena s.a.**
Asiaciones enzimáticas alimentarias
OFICE, S.L.
Fundat el 1947

ASEZPAN

AGENCIA DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



INNPACTO PROPAN (2012-2015 >2,8M€)





OBJETIVOS PROPAN

Obtención de productos de panificación innovadores mediante el desarrollo de nuevas levaduras panaderas y de líneas de alta calidad del nuevo cereal Tritordeum



Incrementar el repertorio de levaduras de panificación aislando y desarrollando cepas no GMO con nuevas y buenas propiedades

(I) CSIC/ USAL



Incrementar la calidad y variedad de las harinas de *Tritordeum*

(D+i) AGRASYS



Perfeccionar los procesos tecnológicos de fabricación industrial de panes y dulces, introduciendo elementos novedosos: levaduras y harinas

(D+i) GRUP LASEM



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS

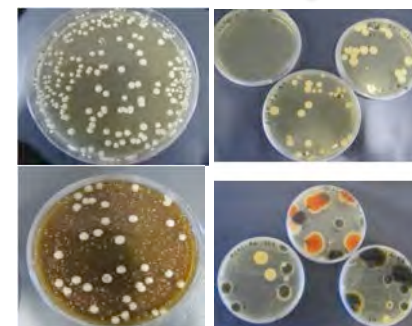


Incubar a 28°C en agua peptona
12h 1 g de grano o harina
2h, 1g /5ml masas madre



Siembra de diluciones en placas (10 clones)

Poder fermentativo



Harinas de diversos cereales (Tubos)
Masas Líquidas sin Harina (Ankom)

Actividades bioquímicas
Maltasa
Invertasa
Aminoácidos
Resistencia a congelación





AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS

De granos y harinas de cereales diversos : 136



Trigo, centenos, espeltas y variedades de *Triticum* *Auca* y *Bule* de varias regiones geográficas (Agrasys S.L.)



Integrales y refinadas :
-Molinos del Duero (Zamora)
-Emilio Esteban (Valladolid)
-Harinas del Segura (Alicante)



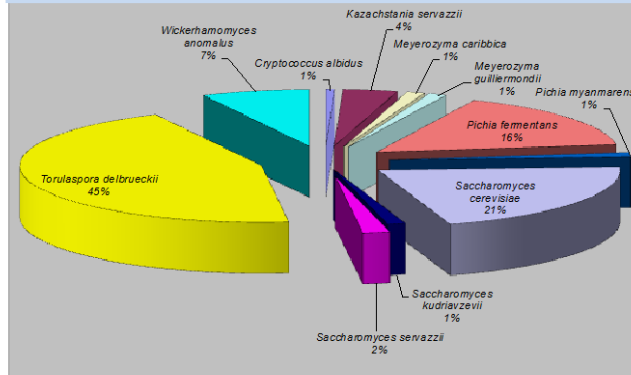
De masas de panadería y de Masas Madre Naturales: 421

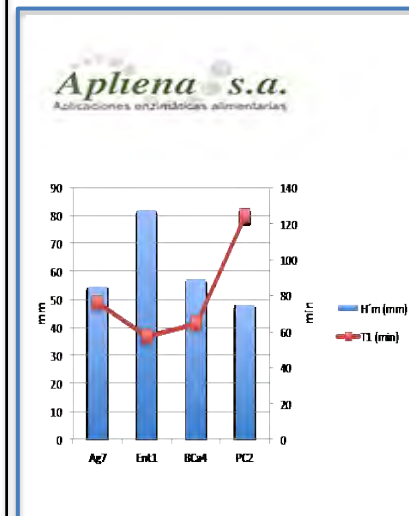
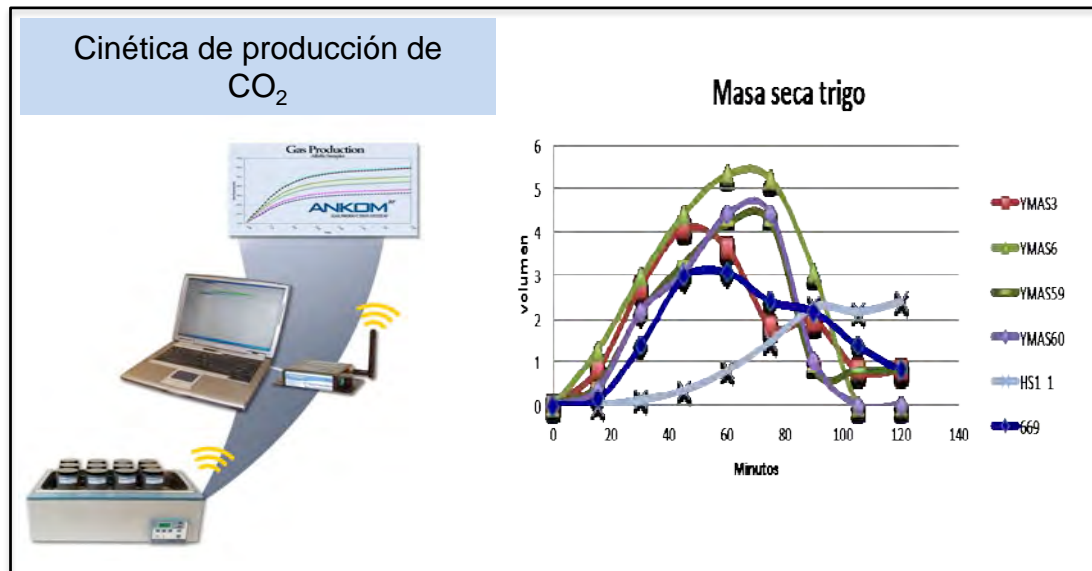
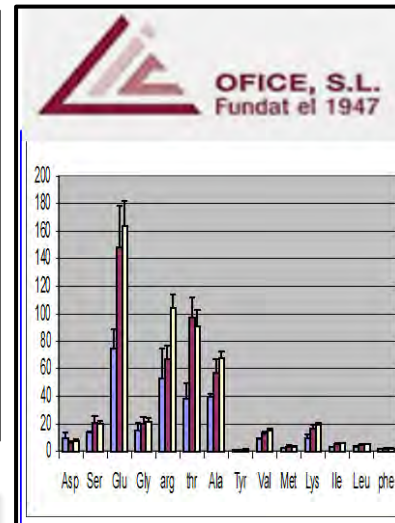
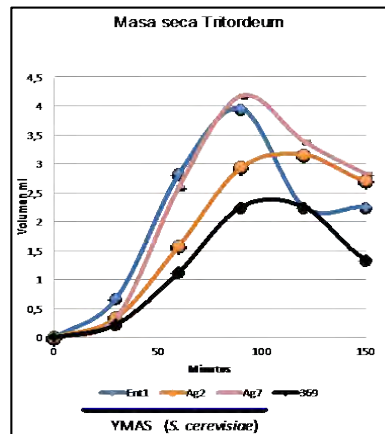
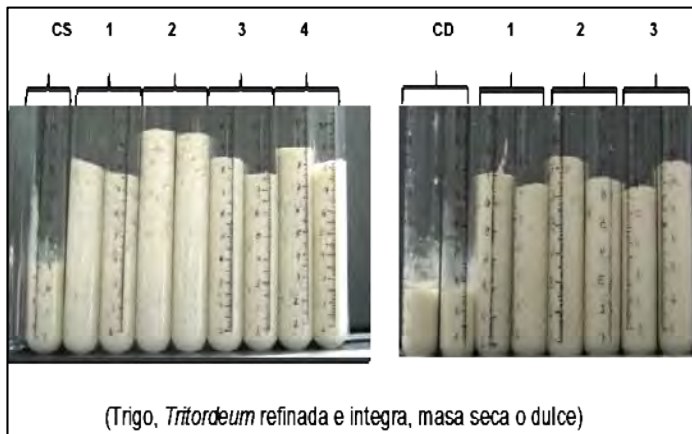


-Masas de 42 panaderías de Castilla y León (Ávila, León, Zamora, Salamanca, Valladolid y Soria)
-7 Masas Madre desarrolladas para PROPAN (Asezpan)
-4 Masas Madre de particulares Harinas de trigo, centeno, espeltas, *Triticum*, integrales y refinada



Biodiversidad de especies en masas madre

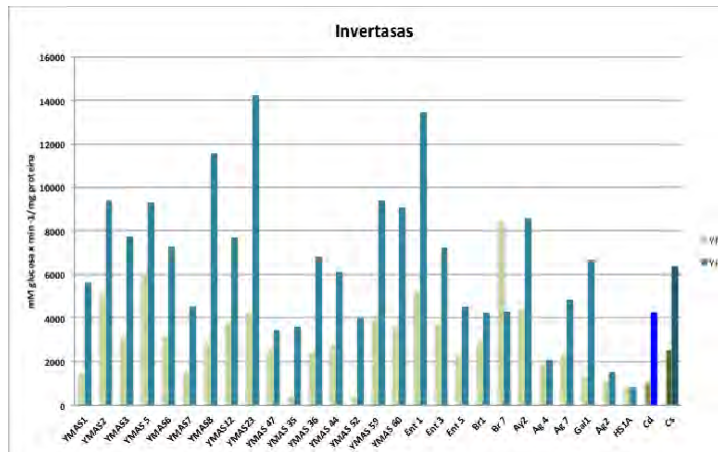
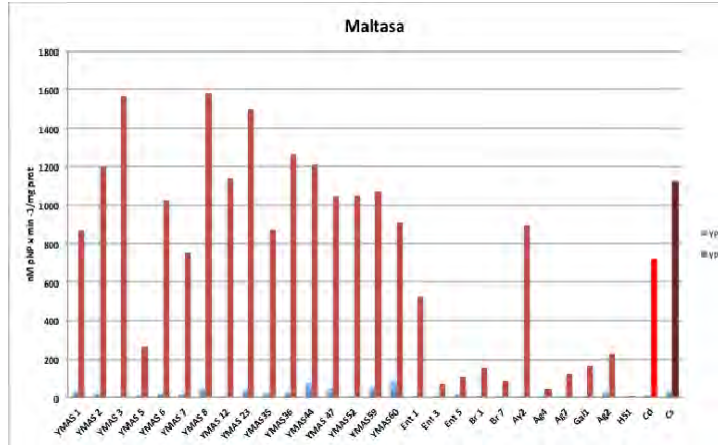




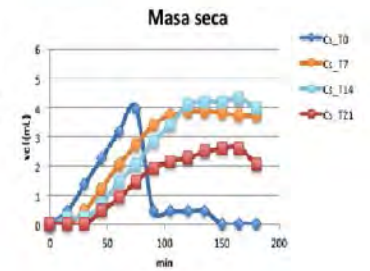
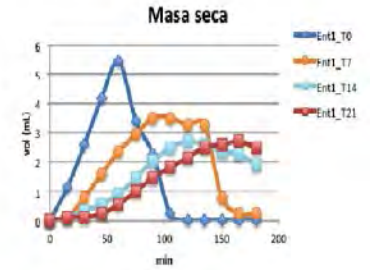
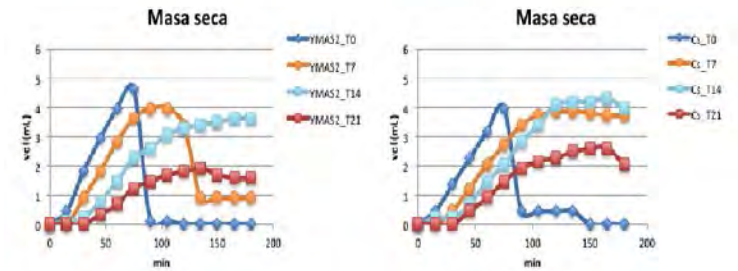
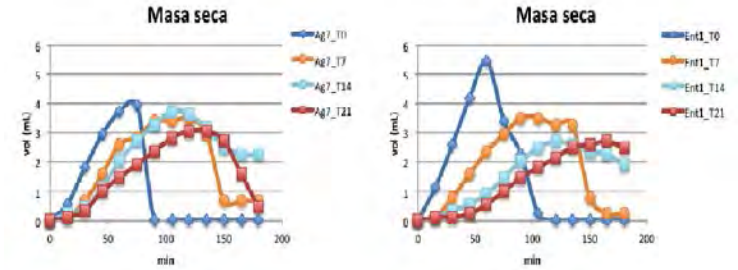


CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGICA

Actividades enzimáticas




Resistencia a congelación





50 cepas de *S.cerevisiae* > comerciales

Harina entera trigo


Seca: 

YMAS 2,3,5,6,59,60,
Ag4, **SFG1**, **MFa1**, **MFB1**,
ME5FP10


Dulce: 

YMAS 2,3,12,23,60, Ay2,
Br7, **SFG3**, **MFa6**

Harina entera Tritordeum


Seca: 

YMAS 1,2,6,35,36,
Ent3, Ent5, Ag4, Gal1, **MFB6**


Dulce: 

YMAS 2,12,23,47,52
Ent1, Ag4, Ag7, **MFa6**



Harina integral Tritordeum


Seca: 

YMAS 2,8,47,52,59,
Ent1, Ent3,
Ent5, Ag4, Ag7

Dulce: 

YMAS 2,3,12,36,47,52,59
Ent1, Ent3, Ag2, Ag7



! "#\$% & #3) &

! "#\$% & #3) 5#7 &

! "#\$% & #3) #96: ; &&

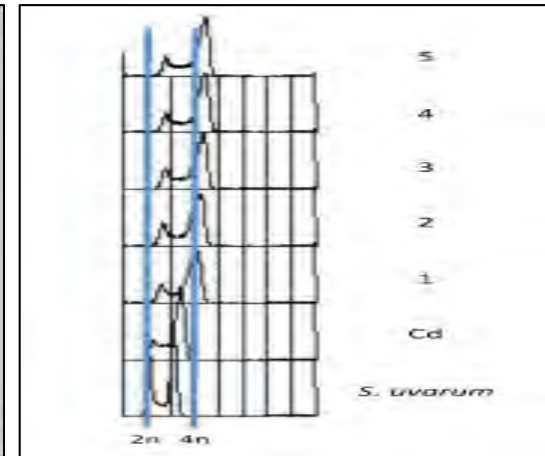
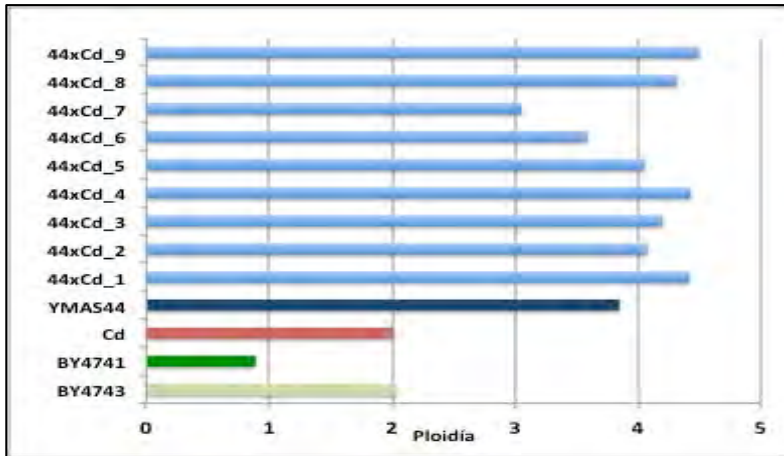
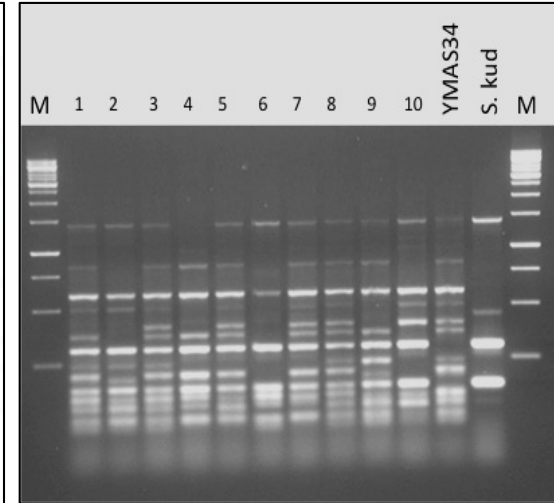
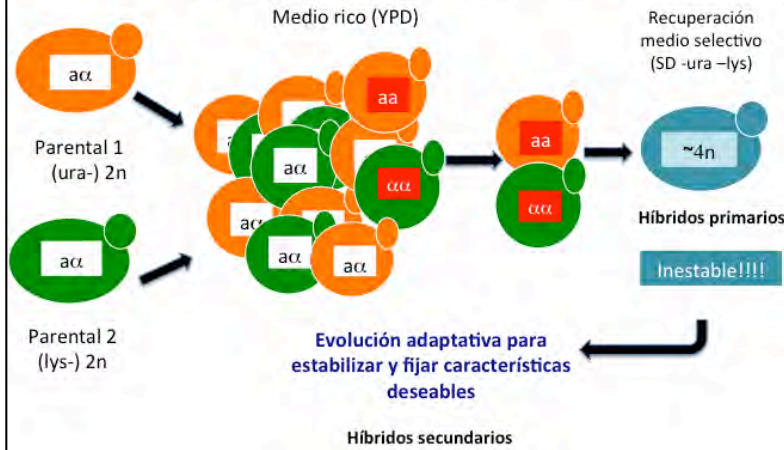
! "#\$% & #3) #96: ; &&

*1#2) %3# 5# 8#%&



OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HÍBRIDOS

2.1. Obtención híbridos por cruzamientos naturales (no OMGs): "rare-mating"





ESTABILIZACIÓN DE 14 NUEVOS HÍBRIDOS LEV

14 Híbridos obtenidos

369 ura- x *S. kudriavzevii* lys-
369 ura- x *S. uvarum* trp-
YMAS120 x *S. uvarum* trp-
H59 x *S. kudriavzevii* lys-
H59 x *S. uvarum* trp-
H59 x **YMAS120**
369 ura- x **YMAS44** trp-

369 ura- x **YMAS23**
H59 x **YMAS23**
H59 x **YMAS44** trp-
YMAS5 x *S. kudriavzevii* lys-
YMAS23 x *S. kudriavzevii* lys-
YMAS34 x *S. kudriavzevii* lys-
YMAS120 x *S. kudriavzevii* lys-

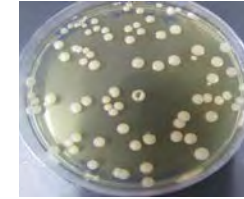
Adaptación: Híbridos secundarios estables

(20-30 generaciones)



MAB, sacarosa
LD, maltosa

5 ciclos



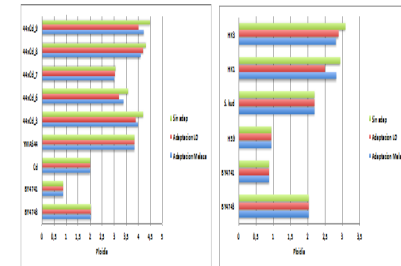
Siembra (10 clones)



Ploidía: FACS (~4n....~2n)



Fermentación de harinas





PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE LOS HÍBRIDOS 2^{os}

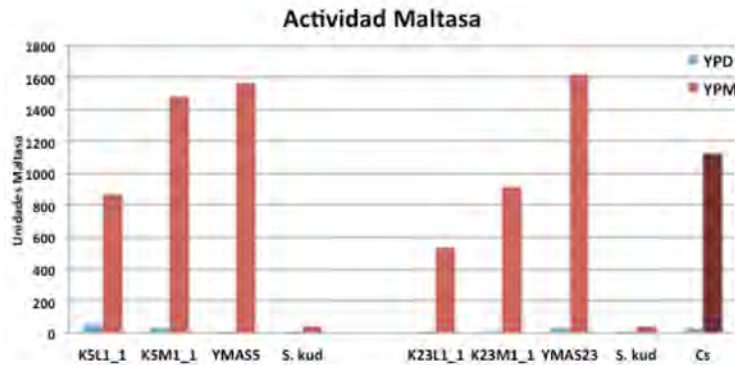
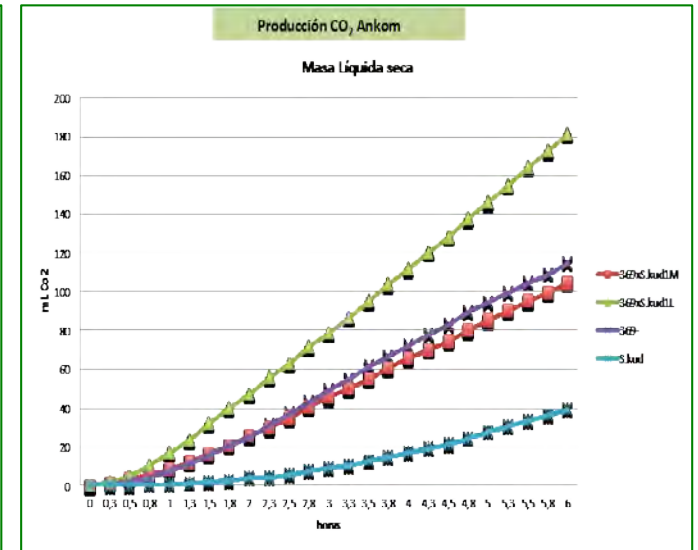
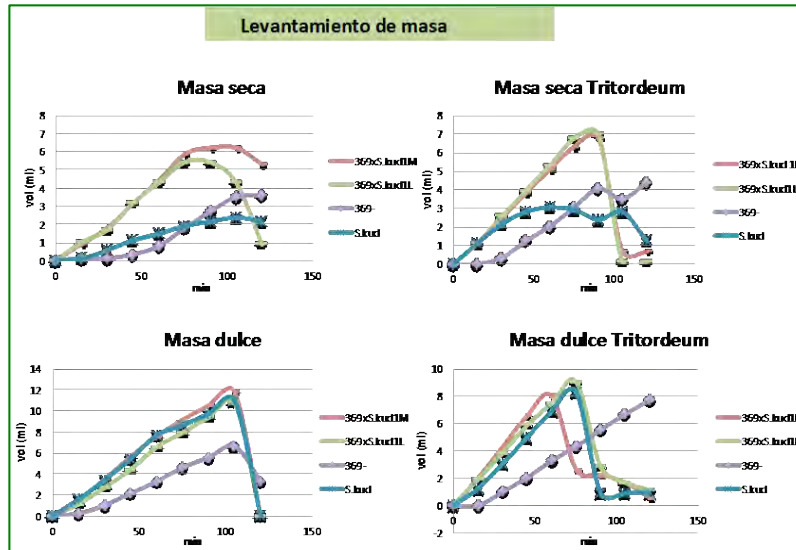


Figura 20. Unidades enzimáticas de actividad maltasa (alfa-1,4-glucosidasa) de diferentes cepas estudiadas, expresada en nanomoles de paranitrofenol que libera por minuto por 1mg de extracto celular crudo de levadura, a partir del sustrato cromogénico PNPG. YPD: medio con glucosa (represión). YPM: medio con glucosa.

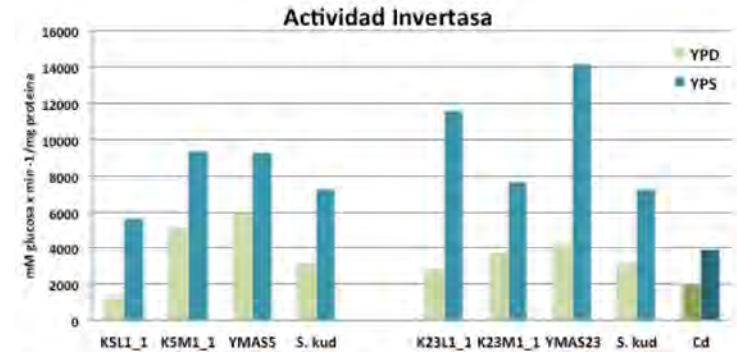


Figura 21. Actividad invertasa de diferentes cepas de levadura. La actividad enzimática está expresada en milimoles de glucosa que libera por minuto 1mg de proteína total de extracto celular de levaduras. YPD: medio rico con glucosa al 2%. YPS: Medio rico con sacarosa al 2%.

RESULTADOS IBFG

1 ARTÍCULO Chiva RA, Jiménez-López A, Espinosa M, Santos MA and Tamame M. (2014) *Nuevas levaduras para nuevos panes* ALIMENTARIA 456: 38-46. <http://www.revistaalimentaria.es/index.php>

1 FERIA ALIMENTARIA SALAMAQ 2014 5 de Septiembre de 2014. *La importancia de las levaduras en el proceso de elaboración del pan*. IBFG (CSIC-USAL). **Exhibición** del proceso de la fermentación de los azúcares de harina por levaduras, microscopía y sustancias nutritivas y/o organolépticas que generan.

4 CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES

- 1) RA Chiva, MD Espinosa, A. Jiménez-López and M. Tamame. *Aislamiento y caracterización de nuevas levaduras de masas madre y su uso para panificación de harinas innovadoras*. V Congreso de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana (Oviedo, 2014) p 89.
- 2) RA Chiva, A. Jiménez-López, J. Calderón, L. Celador, E. Velázquez, R. Riva and M. Tamame. *Obtención de productos de panificación innovadores mediante el desarrollo de nuevas levaduras panaderas*. XXV Congreso de Microbiología (SEM15) (Logroño, 2015) p 281
- 3) MD Espinosa_Alcantud, RA Chiva, A. Jiménez-López and M. Tamame. *Isolation and characterization of yeast from artisan sourdoughs for innovative baking process*. BAC 2015 9th Congress of FE Biotec – Annual Congress of Biotechnology. (Salamanca, 2015) p 89.
- 4) R. Chiva, L. Celador, JA Uña, E. Velázquez, MA Santos and M Tamame. *Selección de levaduras salvajes y obtención de nuevos híbridos con buenas propiedades para panificación*. XXXIX Congreso de la SEBBM (Salamanca, 2016) p. 76.

2 TRABAJOS FIN DE MÁSTER EN EL IBFG

1. Aislamiento y caracterización de levaduras presentes en masas artesanas para procesos de panificación innovadores. María Dolores Espinosa Alcantud. Universidad de Salamanca (03-7-2014).
2. Estudio de la biodiversidad microbiana durante la maduración de masas madre realizadas con harinas de diferentes cereales. Sira Blanco Navarro. Universidad de Salamanca (11-7-2016).

DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Impacto del INNPACTO: <http://cristinagaliano.com/2015/pan-artesano-y-masa-madre/>

El Norte de Castilla, entrevista IBFG: 9/3/2015«Hay que recuperar con investigación e innovación el valor de hacer buen pan en Salamanca» <http://www.elnortedecastilla.es/salamanca/201503/29/ibfg-usal-encabezan-proyecto-20150329124938.html>



Premio 2015 de la Fundación Grupo SIRO al mejor Proyecto de Investigación Agroalimentaria de Castilla y León
"De nuevas levaduras, cereales y productos de panificación"



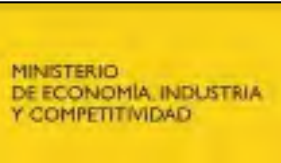
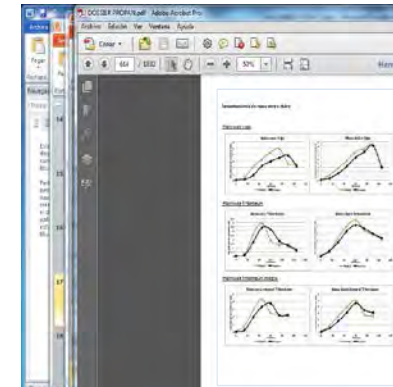
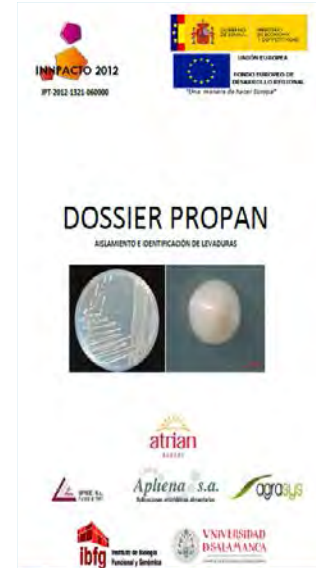
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
FUNCIONAL Y GENÓMICA



Entrega 13 de Julio de 2016, MAGRAMA



PROPAN 2012-2015



INNOSTARPAN RTC-2015-4391-2 "NUEVOS PRODUCTOS INDUSTRIALES DE PANIFICACIÓN A TRAVÉS DEL DESARROLLO DE NUEVOS STARTERS Y HARINAS INNOVADORAS DE ALTA CALIDAD" ESTÁ FINANCIADO POR EL MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD (MINECO) Y COFINANCIADO POR EL FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)

InnoStarPan persigue formular nuevos starters vivos mixtos de panificación (SVM) compuestos por levaduras salvajes optimizadas (LEVSO) y bacterias ácido-lácticas (BAL), aisladas, identificadas y seleccionadas como cepas autóctonas a partir de *masas madre* naturales.

Se generarán combinaciones LEVSO+BAL específicas y eficaces para fermentar harinas innovadoras (trigos, espeltas, centeno, Triticordeum) con el fin último de fabricar a gran escala productos de panificación diferenciables, con propiedades similares a los elaborados con *masas madre naturales* a pequeña escala (texturas, aromas, sabores, duración) aportando así innovación y valor económico en el sector alimentario español de la panificación a mediana y gran escala.

- Presupuesto Total: 1.243.694,99 €.
- Presupuesto Total concedido al CSIC: 226.151,09 €.
- Subvención CSIC: 169.993,60 €
- Anticipo Reembolsable FEDER USAL: 63.157,49 €
- Duración: 2015-2018



El CSIC, a través de sus investigadores en el *Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG)*, es Socio OPI en el proyecto InnoStarPan, liderado por ATRIAN BAKERS S.L., financiado por el MINECO y fondos europeos FEDER.



Investigador Principal:
Dra. Mercedes Tamame González
Zacarías González 2
37007 Salamanca
tamame@usal.es
<http://ibfg.es/es/mercedes-tamame>



Nuevas líneas de Tritordeum



Molinos del Duero (2016)



14 Masas Madre Maduras



AB MAURI



Levadura

Cinta Roja AY2 ME7FP6 Mauri Clásica Y344-3M1



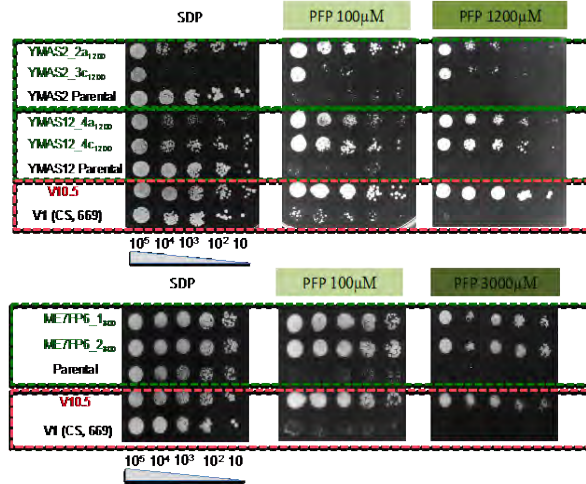
Panes y croissants de harina de Tritordeum realizados con las tres LEV y la cepa comercial Hércules (Lesaffre)



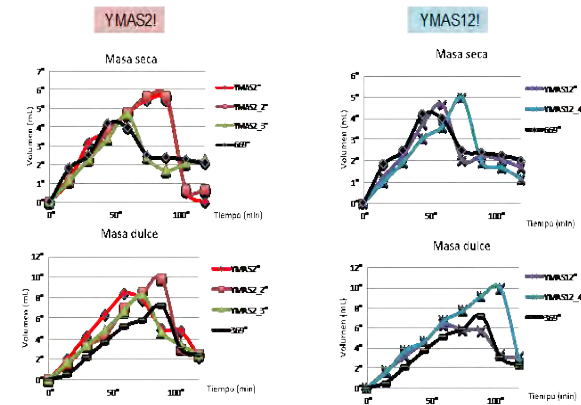


CEPAS OPTIMIZADAS LEVSO (LEVS)

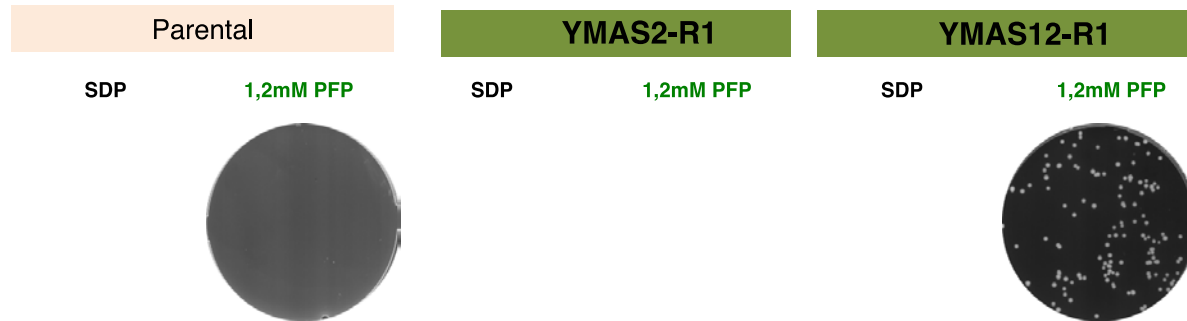
Selección de clones estables resistentes a concentraciones crecientes de PFP



Capacidad fermentativa de clones estables resistentes 1200µM PFP



Estabilidad clonal de mutantes de levaduras YMAS2, YMAS12 resistentes a 1200 µM PFP



Selección cepas LEVSO sobre-productoras de fenilalanina, lisina, auxótrofas de uracilo, resistentes a represión por glucosa : **OBTENCIÓN DE HÍBRIDOS LEVSO**

PARTICIPANTES EN INNOSTARPAN 2015-2018



ibfg
CSIC

Four individual portraits of participants from IBFG-CSIC, arranged in a 2x2 grid.

VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

Five individual portraits of participants from the University of Salamanca, arranged in two rows: three in the top row and two in the bottom row.



agrasys
tritordeum.

ASEZPAN

AB MAURI

Levadura