

NUTRICION Y SALUD

Las levaduras como recurso proteico en la dieta humana; algunos aspectos de su problemática¹

RAMON VILLALON²
y MARIA ANGELICA TAGLE²

INTRODUCCION.

Se ha estimado que en los países en desarrollo actualmente hay 1.500 millones de individuos que no tienen un régimen de alimentación adecuado y 300 a 500 millones ni siquiera tienen alimentos suficientes (1). Imperiosamente hay que mejorar la dieta de los que están en situación precaria y hay que prever la existencia de alimentos en calidad y cantidad suficientes para las generaciones venideras. La pregunta es: ¿Cómo puede técnicamente afrontarse esta situación?

La respuesta no está en absoluto clara; parecería que deberá provenir del trabajo colaborativo de un equipo multiprofesional fuerte, en el que investigadores, planificadores, especialistas en ciencias sociales, economistas, agricultores, industriales, etc., apliquen la ciencia y la tecnología a la producción, preservación, comercialización y distribución de los alimentos considerados tradicionalmente como tales. También deberá existir una verdadera movilización de recursos científicos y técnicos hacia la obtención de alimentos a partir de otros materiales.

Vale la pena ubicar la situación dietaria chilena en el contexto planteado en el primer párrafo. En 1970 se publicó una recopilación e interpretación de encuestas dietarias (2), realizadas a población proletaria durante el decenio 1960-1970; aquí aparece claramente que en la

La mitad de la población del mundo carece de un régimen de alimentación adecuado. Es, por lo tanto, urgente buscar la manera de mejorar la dieta obteniendo alimentos a partir de otros materiales, como es el caso de las levaduras como recurso proteico en la dieta humana.

Los estudios realizados en el último decenio indican que en el régimen dietético proletario, el principal déficit es el calórico, coexistiendo con un déficit proteico, lo que causa preocupación en todos los países.

Estas nuevas orientaciones de la investigación señalan que entre las proteínas no convencionales están aquellas derivadas de bacterias cultivadas en petróleo, hongos cultivados en lejiás, etc.

Los autores destacan que se ha abierto un nuevo capítulo a la investigación, el cual por razones obvias constituye una línea promisorias que debe ser incrementada.

dieta proletaria el primer déficit es el calórico, coexistiendo un déficit proteico que también causa preocupación a nivel nacional.

Hace algunos años FAO clasificó las proteínas en tres grandes grupos:

a) convencionales, que son aquellas contenidas en los alimentos proteicos tradicionales (carnes, leches, huevos, leguminosas).

b) semiconvencionales, que implican una modalidad diferente en el procesamiento y/o utilización, por ejemplo harina de pescado, tortas de prensado de oleaginosas.

c) no convencionales que son aquellas que se obtienen a partir de materiales no usados anteriormente como recursos alimentarios (bacterias cultivadas en petróleo, hongos cultivadas en lejiás, etc.).

Dadas las condiciones alimentarias imperantes, ningún recurso debe desestimarse, por el contrario, todo recurso proteico real o potencial merece ser estudiado y evaluado en cuanto a sus posibilidades presentes y futuras. Tal es el caso de las levaduras y de los microorganismos en general, que se perfilan como del más alto

¹ Texto del relato oficial presentado a la Segunda Reunión Científica de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), celebrada en Viña del Mar, diciembre 1970.

² Unidad de Nutrición Básica, Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina Universidad de Chile.

interés; sin embargo, desde su manipulación experimental hasta su introducción en la dieta del hombre, se plantea toda una problemática.

Consideraciones generales:

Vale la pena recordar que cuando nos referimos a microorganismos, se está aludiendo a un conjunto tremendamente variado. Cuando hablamos de levaduras, todavía nos estamos refiriendo a un universo muy amplio. Más aún, para una misma levadura pueden encontrarse resultados químicos y biológicos muy diferentes, dependiendo de la fase de crecimiento, medio de cultivo, condiciones de manufacturación, temperatura de secado, etc. (3-4).

Cíclicamente, a través de los años, las levaduras han sido objeto de interés académico e industrial, observándose últimamente un enorme esfuerzo que se mantiene e intensifica, teniendo como meta su introducción como recurso proteico en la dieta del hombre (3-4). Las características de las levaduras que hacen estudiarlas optimistamente se enumeran en el Cuadro N° 1. Se cultivan fácilmente: tienen requerimientos nutritivos simples que van acompañados de exigencias mínimas ambientales y, cuando el medio les es favorable, manifiestan una gran velocidad de reproducción. Estas características implican la factibilidad de producir cantidades importantes de materia viva, y por lo tanto, de proteína en escaso tiempo y a bajo costo. Luego, su alto contenido de proteínas permite considerarlas como concentrado proteico. La calidad de esta proteína no es óptima, diríamos que es regular o aceptable. La proteína tiene buena digestibilidad. Además, las levaduras tienen alto contenido de vitaminas y minerales, razón por lo que se las ha usado en diferentes raciones, en concentración baja, del orden del 3% (5-8), donde sus desventajas no alcanzan a hacerse sentir. Pero, la tendencia actual de utilizarlas como recurso proteico, implica elevar su concentración en la dieta y es aquí donde debe actuarse con criterio biológico estricto, a conciencia de ventajas y desventajas.

Las principales desventajas de las levaduras como posible recurso proteico para el hombre (Cuadro N° 1), de alguna manera derivan de las ventajas anteriormente señaladas. El alto contenido de RNA es característico de los organismos de gran velocidad de reproducción. Las condiciones organolépticas parecen estar relacionadas con el contenido de vitaminas y minerales. Además de estas desventajas, se ha señalado que ciertas levaduras contienen histamina y tiramina, sustancias alergénicas (9), cuya presencia posiblemente ayudaría a explicar cierta sintomatología cutánea y gastrointestinal descrita en algunas experiencias con humanos (10).

También vale la pena recordar que en experiencias en ratas se ha descrito actividad neogénica hepática de las proteínas de levadura, (11-12).

Alto contenido de RNA en levaduras:

En la investigación nutricional la existencia de un alto contenido de RNA en las levaduras debe considerarse desde tres puntos de vista:

1. Falsea la concentración proteica;
2. Falsea la calidad de la proteína, y
3. Efectos propios de la ingestión de RNA en el hombre.

1. Generalmente para el análisis de proteínas en alimentos y forrajes, se determina nitrógeno y este se multiplica por 6,25 (Cuadro N° 2). Referido a las levaduras, este método involucra un error relativamente importante, ya que no todo el nitrógeno es proteico y por lo tanto los valores informadores son una sobreestimación.

2. Los métodos más usuales para determinar la calidad de una proteína son la utilización proteica neta (UPN) y la razón de eficiencia proteica (PER). La UPN es el cociente entre el nitrógeno retenido y el ingerido, expresado porcentualmente; en otras palabras, es el porcentaje del nitrógeno ingerido que el animal es capaz de retener:

$$\text{UPN igual } R/I \times 100$$

Lógicamente, como no todo el nitrógeno ingerido es proteico, el denominador de la fracción aparece sobreestimado, lo que implica disminución del cociente.

PER es la relación entre los gramos de peso ganado y los gramos de proteína ingerida, o lo que es lo mismo, la ganancia de peso referida a cada gramo de proteína ingerida:

PER igual g peso ganado/g proteína ingerida, nuevamente el denominador (calculado habitualmente como se explicó en 1) se sobreestima, lo que necesariamente disminuye el cociente. Otro índice de calidad de proteína, no tan valioso como los anteriores, sino más bien complementario, es la expresión de digestibilidad (D), que significa el porcentaje del nitrógeno ingerido que absorbe el animal.

D igual A/I x 100, expresión que se afecta en forma similar que las anteriores.

Si consideramos los puntos 1 y 2, queda claro entonces que las técnicas habituales de análisis sobrestiman la concentración y subestiman la calidad, cuando se las aplica al estudio de proteínas en levaduras.

El Cuadro N° 2 muestra la concentración proteica en su expresión habitual, N x 6,25, para diversas levaduras según la literatura y también

algunos datos nuestros, resultados de análisis efectuados en *Saccharomyces cerevisiae* y *Torula utilis*, cultivadas por la Industria Azucarera Nacional (IANSA), en melazas de remolacha. En general la concentración varía desde 37,0 a 62,5%, y las muestras nacionales se ubican en el rango alto.

Es difícil comparar datos de la literatura por cuanto en muchos casos, especialmente en los trabajos antiguos, faltan especificaciones. Considerando que toda esta información está sobrestimada, las preguntas que lógicamente se siguen son: a) ¿Cuánto del nitrógeno es no proteico?, y b) ¿Cuán es la partición de este nitrógeno? Según Kuen (19), 8 a 13% corresponde a purinas, 4% a pirimidinas, 0,57% a colina y otros productos, lo que implicaría que el nitrógeno no proteico tiene que ser mayor que 12,5% (ver Cuadro 3). Según von Soden y Dirr (20), el 20% del nitrógeno es no proteico. Según Carter (21), 10% proviene de purinas y 4% de pirimidinas, y puesto que este autor no considera los otros rubros, se desprende que el no proteico tiene que ser superior al 14%. Según Dunn (22), el no proteico asciende a 29%, cifra en absoluto despreciable.

El cuadro N° 4 muestra la calidad de la proteína de levadura en sus diferentes expresiones, según resultados de la literatura y algunos nuestros. La información bibliográfica ha sido transcrita tal como aparece en los artículos originales; llama nuevamente la atención la diferencia en especificación o la ausencia de especificaciones, de ahí que se hace extraordinariamente difícil comparar datos de diferentes fuentes. La calidad, medida como UPN, va de 27 a 59, tampoco aquí hay información en cuanto al proceso de secado que pudiera castigar la calidad por daño térmico. Como apreciación general, se podría decir que la digestibilidad, es satisfactoria, la calidad varía desde deficiente hasta aceptable.

3. La información que aporta la literatura en cuanto al contenido de RNA en microorganismos tampoco es muy abundante. En el Cuadro 5 se presentan algunos datos y se comparan con los nuestros. Según Mateles (30), *Saccharomyces cerevisiae* contiene entre 6 y 8% de RNA, nosotros encontramos 6,1 para *Saccharomyces* y un valor algo más bajo 5,5%, para *Torula*. Estas cifras son relativamente bajas si se las compara con las encontradas en otros microorganismos: *Escherichia coli*, 12,8; *Staphylococcus aureus*, 11,6; pero son extremadamente altas si se comparan con los alimentos que consume el hombre. Por ejemplo, el hígado, órgano muy rico en ácidos nucleicos, contiene sólo 2,6% sobre peso seco, la sardina sólo 1,4% (29); además, hay que considerar que los recién citados, elegidos entre los de alto

contenido nucleico, tienen escasa incidencia en la dieta diaria. Por lo tanto, la introducción de levaduras en la dieta habitual del hombre podría implicar una alteración importante del pattern de ingestión nitrogenada.

Las bases púricas, adenina y guanina, constituyentes de la molécula del RNA, son potencialmente peligrosas para el hombre, si se las ingiere en exceso. Ellas se degradan hasta ácido úrico, producto escasamente soluble y que sobre cierto límite es tóxico.

El Cuadro N° 6 muestra el efecto de la ingestión de RNA sobre la uricemia y la uricuria en individuos normales, de acuerdo a los resultados experimentales de tres diferentes investigadores.

Waslien (31) alimentó a 5 sujetos sanos con dieta que contenía 75 g de proteínas de huevo por día y luego agregó cantidades crecientes de RNA de levaduras: 2,4 y 8 g/día. En todos los casos hubo incrementos importantes en la uricuria: de un nivel basal de 373 mg/24 horas, subió a 667 con la ingesta de 2 g RNA/día, a 939 con 4 g RNA/día, y a 1393 con 8g RNA/día. La uricemia se mantuvo bajo el límite de normalidad hasta 2 g RNA/día (criterio de normalidad hasta 6,3 mg/100 ml (32)), pero lo sobrepasó con 4 y 8 g, llegando en este último caso a 9,4 mg/100 ml. Waslien trabajó con un grupo pequeño de individuos durante 15 días y comenta que la introducción de unicelulares en las dietas americanas típicas deberá hacerse con precauciones.

Edozien (33), investigó el alza de los niveles de uricemia y uricuria en cuatro sujetos sanos, alimentados con dieta que contenía 100 g de proteína/día y cantidades crecientes de ácidos nucleicos. Con la dieta basal encontró una uricemia promedio de 4,5 mg/100 ml y una uricuria promedio de 510 mg/24 horas; con la adición de 2,9 g de nucleicos/día, la uricemia aumentó a 7,2 mg/100 ml, cifra superior a lo normal (32), y la uricuria ascendió a 1192 mg/24 horas; a mayores cantidades de ácidos nucleicos en la ingesta, mayores los niveles detectados (Cuadro N° 6).

Por su parte, Bowering (34) experimentó con 6 sujetos a los que sometió a una dieta pobre en purinas, donde el único aporte de ellas estaba dado por la levadura del pan, 175 mg/día; la dieta contenía 13 g de nitrógeno/día. Encontró que en estas condiciones dietarias el nivel promedio de uricemia era de 5,1 mg/100 ml, en tanto que la uricuria llegaba sólo a 388 mg/24 horas. Cuando los sujetos recibieron además 4 g RNA/día, el nivel circulante llegó a 9,2 y la excreción en 24 horas alcanzó 1043 mg. La experiencia de Bowering aparece como más completa que las anteriores, ya que informa también sobre el turnover que era de 639

mg/24 horas y con la ingesta de 4 g RNA/día aumentó a 1483 mg/24 horas. El tamaño del pool era inicialmente de 1104 mg y con la adición de 4 g RNA a la dieta diaria alcanzó 1892 mg. Llama potencialmente la atención que el pool se acrecienta en 71%, a pesar de un incremento de 132% en el turnover. No está en absoluto claro qué consecuencias fisiológicas puede tener el aumento del tamaño del pool, y menos si se trata de periodos más prolongados que los 11 días que ensayó Bowering.

Dado que todas las experiencias realizadas en humanos cubren sólo un pequeño número

de individuos y son de corta duración, por el momento resulta imposible predecir las consecuencias del empleo de levadura como recurso proteico habitual en la dieta humana. La pregunta clave queda pendiente ¿cuál es la cifra de levadura en la ingesta diaria capaz de garantizar inocuidad a cualquier individuo y para cualquier periodo de ingesta? Definido ese nivel, también cabría agregar información experimental en cuanto a la incidencia de los otros factores desventajasos (Cuadro N° 1).

Nos parece que los unicelulares como recurso proteico en la dieta humana constituyen un capítulo abierto a la investigación.

CUADRO N° 1

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS LEVADURAS COMO POSIBLE RECURSO PROTEICO PARA EL HOMBRE

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Requerimientos nutritivos simples	Alto contenido de RNA
Gran velocidad de reproducción	Características organolépticas desfavorables
Alto contenido de proteínas	Contenido de histaminas y tiraminas
Calidad proteica aceptable	¿Actividad necrogénica?
Buena digestibilidad de la proteína	
Alto contenido de vitaminas	
Alto contenido de minerales	

CUADRO N° 2

CONCENTRACION DE PROTEINA (N x 6,25) EN LEVADURAS

<i>Autores</i>	<i>Levaduras</i>	<i>Medio de Cultivo</i>	<i>N x 6,25 % peso seco</i>
Klose y Fevold (13)	Torula	Jugo ciruelas	62,5 *
Klose y Fevold	Torula	Melaza caña	57,8 *
Klose y Fevold	Saccharomyces	Cerveza	47,8 *
Tsien y Cols. (14)	Torula	————	51,5 *
Sure (15)	Saccharomyces	————	48,8
Pyke (16)	Saccharomyces	Melaza	50,0
Pyke	Saccharomyces	Cerveza	37,0
Pyke	Torula	Licor sulfítico	50,0 - 53,0
Pyke	Torula	Melaza	40,0 - 61,0
Bressani (17)	Torula	————	50,37
Bressani	Saccharomyces	————	47,88
Villalón y Tagle (18)	Torula	Melaza remolacha	58,40
Villalón y Tagle	Saccharomyces	Melaza remolacha	61,55

* Calculado a partir de los valores originales, asumiendo 8% de humedad.
 ——— No se especifica.

CUADRO N° 3

PARTICION PORCENTUAL DEL NITROGENO DE LEVADURAS

	<i>Kuen (19)</i>	<i>von Soden y Dirr (20)</i>	<i>Carter (21)</i>	<i>Dunn (22)</i>
Nitrógeno de:				
Proteínas		80		70
Purinas	8-13		10	10
Pirimidinas	4		4	4
Colina y otros productos	0,57			15
Total no proteico	>12,5	20	>14	29

CALIDAD DE LA PROTEINA DE LEVADURA

<i>Autores</i>	<i>VB¹</i>	<i>D²</i>	<i>UPN³</i> <i>(VB x D)</i>	<i>Material</i>
Still y Koch (23)	45	72	32,4	————
Voltz (24)		88		Levadura cervecera
Osborne y Mendel (25)		83		————
Mitchell (26)		76		————
Goyco y Asenjo (27)	45,3	87,3	39,5	Torula
	69,3	85,5	59,3	Levadura cervecera
Goyco y Asenjo (28)	31,8	84,8	26,8	Torula
	58,4	79,9	46,7	Levadura cervecera
	58,9	80,7	47,5	Levadura panadera
Villalón y Tagle (18)			40,3	Torula
			41,79	Saccharomyces

1. VB = Valor biológico, corresponde al porcentaje del nitrógeno absorbido que es retenido:

$$VB = \frac{R \times 100}{A}$$

2. D = Digestibilidad, corresponde al porcentaje del nitrógeno ingerido que es absorbido:

$$D = \frac{A \times 100}{I}$$

3. UPN = Utilización protéica neta, corresponde al porcentaje del nitrógeno ingerido que es retenido:

$$UPN = \frac{R \times 100}{I}$$

CUADRO N° 5

CONTENIDO DE RNA EN ALGUNOS MICROORGANISMOS

<i>Autores</i>	<i>Organismos</i>	<i>%</i>
Miller (29)	Escherichia coli	12,8
Miller (29)	Bacillus anthracis	4,4
Miller (29)	Staphilococcus aureus	11,6
Mateles (30)	Saccharomyces cerevisiae	6,0-8,0
Edozien (31)	Torula utilis	6,4
Villalón y Tagle (18)	Saccharomyces cerevisiae	6,1
	Torula utilis	5,5

EFFECTOS DE LA INGESTION DE ACIDOS NUCLEICOS SOBRE LA URICEMIA, URICURIA, POOL MISCIBLE Y TURNOVER DE ACIDO URICO EN INDIVIDUOS SANOS.

ACIDO URICO

	d ^o	sérico ml/100 ml	urinario mg/24 horas	miscible mg	Turnover mg/24 horas	Fuente bibliográfica
75 g proteínas	15	4,9 (5)	373 (5)			Waslien (31)
75 g proteína más 2 g RNA	15	6,0 (5)	667 (5)			Waslien (31)
75 g proteína más 4 g RNA	15	7,7 (5)	939 (5)			Waslien (31)
75 g proteína más 8 g RNA	15	9,4 (5)	1393 (5)			Waslien (31)
100 g proteína	16	4,5 (4)	510 (4)			Edozien (33)
100 g proteína más 2,9 g (RNA y DNA)	9	7,2 (4)	1192 (4)			Edozien (33)
100 g proteína más 5,8 g (RNA y DNA)	9	8,8 (4)	1853 (4)			Edozien (33)
100 g proteína más 8,7 g (RNA y DNA)	9	9,4 (4)	1871 (4)			Edozien (33)
81 g proteína	15	5,1 (6)	388 (6)	1104 (3)	839 (3)	Bowering (34)
81 g proteína más 4 g RNA	11	9,2 (5)	1043 (5)	1892 (4)	1483 (4)	Bowering (34)

d^o — días de ensayo.

() — Los números entre paréntesis indican la casuística.

BIBLIOGRAFIA :

1. FAO. Vidas en peligro. Las proteínas y el niño. Publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación por encargo del Grupo Asesor en Proteínas, 1970.
2. Tagle, M. A., La Calidad y Valor proteico de la dieta del proletariado chileno. Revista Médica de Chile, 98:549, 1970.
3. Mateles, R. I. and Tannenbaum, S. T. "Single-Cell Protein". The M. I. T. Press Cambridge, Massachusetts and London, England, 1968.
4. Snyder, H. E. "Microbial sources of protein". "Advances in Food Research". Chichester, C. O., Mrak, E. M. and Stewart, G. F., Academic Press, New York and London, 1970.
5. Scrimshaw, N. S., Squibb, R. L., Bressani, R., Behar, M., Viteri, F. y Arroyave, G. Mezclas de proteínas vegetales para la alimentación de niños lactantes y preescolares. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Supl. 3, pág. 96, enero 1959.
6. Bressani, R., Braham, J. E., Jarquin, R. y Elías, L. G. Mezclas de proteínas vegetales para consumo humano. IX Evaluación del valor nutritivo de las proteínas de la mezcla vegetal. INCAP 9, en diversos animales de experimentación. Arch. Venezolanas Nutrición, 12:229, 1962.
7. Bressani, R., Elías, L. G., Braham, J. E. and Erales, M. Vegetable protein mixtures for human consumption. The development and nutritive value of INCAP mixture 15, based on soybean and cottonseed protein concentrates. Arch. Latinoamer. Nutr. 17:177, 1967.
8. Scrimshaw, N. S., Bressani, R., Wilson, D. and Behar, M. Effect of torula yeast on the protein quality of INCAP Vegetable Mixture 9. Am. J. Clin. Nutr. 11:537, 1962.
9. Blackwell, B., Mabbitt, L. A. and Marley, E. Histamine and tyramine content of yeast products. J. Food Sci. 34:47, 1969.
10. Scrimshaw, N. S. The Discussion. D. Single-Cell Protein. En "Protein Calorie Malnutrition". von Muralt, A. A. Nestle Foundation Symposium, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. New York, 1969.
11. Goyco, J. A. Estudio de la relación entre la capacidad regenerativa de la proteína hepática y la actividad necrogénica de las proteínas de levadura. Boletín del Colegio de Químicos de Puerto Rico, 14 (Nº 1), octubre 1957.
12. Schwarz, K. Production of dietary necrotic liver degeneration using American Torula yeast. Proc. Soc. Exp. Med. 77:818, 1951.
13. Klose, A. A. and Fevold, H. L. Nutritional value of yeast protein to the rat and the chick. J. Nutr. 29:421, 1945.
14. Tsien, W. S., Johnson, E. L. and Liener, I. E. The availability of lysine from Torula yeast. Arch. Biochem Biophys. 71:414, 1957.
15. Sure, B. Dietary requirements for fertility and lactation. J. Am. Dietet. Assoc. 22:766, 1946.
16. Pyke, M. The technology of yeast. En "The Chemistry and Biology of yeast. A. H. Cook Academic Press Inc. Publishers, New York, 1958.
17. Bressani, R. The use of yeast in human foods. En "Single-Cell Protein". Mateles, R. I. and Tannenbaum, S. T. The M. I. T. Press. Cambridge, Massachusetts and London, England, 1968.

18. Villalón y Tagle, M. A. Eliminación parcial de RNA de levaduras. Trabajo por publicar.
19. Kuen, F. M. and Puringer, K. The purine content of yeast. *Biochem. Ztschr.* 272:113, 1934.
20. von Soden, O. and Dirr, K. The adequacy of cultured yeast for human nutrition. *Biochem. Ztschr.* 312:252, 1942.
21. Carter, H. E. and Phillips, G. E. The nutritive value of yeast proteins. *Fed. Proc.* 3:123, 1944.
22. Dunn, C. G. *Industrial Microbiology*. Prescott, S. C. and Dunn, C. G. Mc. Graw Hill Book Company, Inc. N. Y. Toronto, London, 3ra. Edition, 1959.
23. Still, E. U. and Koch, F. C. The biological value of yeast proteins for the rat. *Am. J. Physiol.* 87:225, 1928-29.
24. Voltz, W. *Ztschr. Spiritusind.* 33:588, 1910.
25. Osborne, T. B. and Mendel, L. J. *Biol. Chem.* 38:223, 1919.
26. Mitchell, H. H. J. *Biol. Chem.* 58:873, 1924.
27. Goyco, J. A. and Asenjo, C. R. The net protein value of food yeast. *J. Nutr.* 33:593, 1947.
28. Goyco, J. A. and Asenjo, C. R. Net protein and growth-promoting of three different types of yeast prepared under identical conditions. *J. Nutr.* 38:517, 1949.
29. Miller, S. A. Nutritional factors in single-cell protein. En "Single-Cell Protein". Mateles, R. I. and Tannenbaum, S. T. The M. I. T. Press. Cambridge Massachusetts, and London, England, 1968.
30. Mateles, R. I. Applications of continuous culture. En "Single-Cell Protein". Mateles, R. I. and Tannenbaum, S. E. The M. I. T. Press. Cambridge, Massachusetts and London, England, 1968.
31. Waslien, C. I., Calloway, D. H. and Margen, S. Uric acid production of men fed graded amounts of egg protein and yeast nucleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 21:892, 1968.
32. Wyngaarden, J. B. Gout. En "The metabolic basis of inherited disease". Stanbury, J. B. Myn-gaarden, J. B. and Fredrickson, D. S. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. 1960.
33. Edozien, J. C. Udo, U. U., Young, V. R. and Scrimshaw, N. S. Effects of high levels of yeast feeding on uric acid metabolism of young men. *Nature* 226 (Nº 5267):180, 1970.
34. Bowering, J., Calloway, D. H., Margen, S. and Kaufmann, N. A. Dietary protein level and uric acid metabolism in normal man. *J. Nutr.* 100: 249, 1970.