

PROYECTO FONDEF DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

INFORME FINAL

TITULO DEL PROYECTO: ENZIMA DE ORIGEN ANTARTICO CON ACTIVIDAD BETA GALACTOSIDASA
ALTAMENTE EFICIENTE EN DESLACTOSAR LECH E A BAJA TEMPERATURA

CÓDIGO DEL PROYECTO: ID14I10098

FECHA DE EMISION: 30/10/2017

FIRMA DEL (DE LA) DIRECTOR(A) DEL PROYECTO
Renato Chavez

I. Acta De Término Del Proyecto

1.1 Identificación del proyecto

TITULO DEL PROYECTO	ENZIMA DE ORIGEN ANTARTICO CON ACTIVIDAD BETA GALACTOSIDASA ALTAMENTE EFICIENTE EN DESLACTOSAR LECH E A BAJA TEMPERATURA
CÓDIGO FONDEF	ID14I10098
DIRECTOR(A) DEL PROYECTO	Renato Chavez
INSTITUCIÓN(ES) BENEFICIARIA(S)	UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
EMPRESA Y OTRAS ENTIDADES ASOCIADAS	INSTITUTO ANTARTICO CHILENO BIOPOLIS SL

1.2 Ejecución del proyecto

FECHA DE TOMA DE RAZON POR LA CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA	30/12/2014
DURACIÓN CONTRACTUAL	24
FECHA EFECTIVA DE INICIO	02/03/2015
FECHA EFECTIVA DE TÉRMINO	01/09/2017
DURACIÓN EFECTIVA	30

1.3 Plan de Continuidad

Nombre Institución Beneficiaria	Nombre Representante Legal	Firma
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE	CLAUDIO ANDRÉS MARTINEZ FERNANDEZ	Firma Electrónica

1.4 Tabla de Conformidad

Nombre Institución Empresa u Otra Entidad Socia	Nombre Representante Legal	Documento conformidad
INSTITUTO ANTARTICO CHILENO		Si
BIOPOLIS SL		Si

II. Informe Ejecutivo

2.1 Resumen Ejecutivo

Versión en Castellano

La intolerancia a la lactosa es un problema de carácter mundial. En Chile se estima que esta condición afecta entre el 60% y 80% de la población. La industria láctea ha identificado esta necesidad como una oportunidad de negocio, y actualmente ofrece muchos productos "sin lactosa". El proceso requerido para producir este tipo de productos implica el tratamiento de la leche con una enzima llamada beta-galactosidasa, que permite degradar la lactosa a glucosa y galactosa, eliminándola así de la leche. Las beta-galactosidasas comerciales que comúnmente utiliza la industria láctea son mayoritariamente de microorganismos mesófilos, por lo que su actividad a baja temperatura no es eficiente. Esta condición es crítica, particularmente para la producción de leche sin lactosa en polvo, donde la temperatura del proceso no supera los 10°C. El desafío que este proyecto se propuso fue indagar en una solución para este problema productivo, basada en obtener actividad del tipo beta-galactosidasa eficiente a baja temperatura desde microorganismos de origen antártico. Para cumplir con este desafío, se analizó la capacidad de producir beta-galactosidasas activas desde un banco de microorganismos provenientes de la Antártica, se realizó una prueba de concepto (deslactosado) a nivel de laboratorio, y se evaluó las propiedades organolépticas de la leche obtenida. Nuestros resultados sugieren que los microorganismos Antárticos serían una buena fuente de actividad beta-galactosidasa con eficiente actividad a baja temperatura.

Versión en Ingles

Lactose intolerance is a global problem. In Chile, this condition affects between 60% and 80% of the population. The dairy industry currently offers some "lactose-free" products. The process required to produce these products involves the treatment of milk with beta-galactosidase, an enzyme that degrades lactose to glucose and galactose. The commercial beta-galactosidasas used in the dairy industry are obtained from mesophilic microorganisms, so their activity at low temperatures is not efficient. This condition is critical, particularly for the production of lactose-free milk powder, where the temperature of the process does not exceed 10 °C. Therefore, this project addressed a solution to this productive problem, based on beta-galactosidase activity from microorganisms of Antarctic origin with enhanced efficiency at low-temperatures. To meet this challenge, we analyzed the production of beta-galactosidase activity in microorganisms isolated from Antarctic environments. Then, the beta-galactosidase activity was used to produce lactose-free milk at low temperature. Finally the organoleptic properties of milk obtained were determined. Our results suggest that Antarctic microorganisms would be good sources of beta-galactosidase with efficient activity at low-temperatures.

2.2 Cuadro De Síntesis de Resultados y Objetivos

Objetivos Generales	
Nombre Objetivo	OBJETIVO GENERAL
Descripción	Generar un prototipo enzimático para el deslactosado de leche, de origen antártico, con eficiente actividad beta-galactosidasa a baja temperatura, y claro potencial de apropiabilidad, escalamiento y comercialización a nivel industrial.

Objetivos Específicos	
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	A partir de un banco de cepas de levaduras, hongos filamentosos (USACH) y bacterias Antárticas (INACH), se procederá a evaluar y seleccionar los microorganismos que presenten destacada actividad beta-galactosidasa a baja temperatura. Esta selección se realizará sobre la capacidad de hidrolizar sustratos cromogénicos artificiales, en condiciones de laboratorio.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Para cada microorganismo seleccionado en la etapa anterior se generará un extracto enzimático semipurificado, que se ensayará a escala de laboratorio en su capacidad para hidrolizar lactosa pura y en leche, a bajas temperaturas.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Se evaluarán alternativas de transferencia y comercialización. Se evaluarán las fortalezas de la solución y se valorizará su protección intelectual y su futuro escalamiento, aplicación y comercialización.

RESULTADO	
Tipo	Resultado de Producción
Nombre	Extracto enzimático microbiano eficiente en deslactosar leche a baja temperatura
Descripción	La presentación física será un extracto enzimático con actividad beta-galactosidasa producido por un microorganismo, capaz de deslactosar leche a 20° o menos, de manera más eficiente que la enzima comercial actualmente en uso. Las condiciones de uso serán un extracto enzimático con actividad beta-galactosidasa normalizada que se agrega a la leche fría (20° o menos) para que hidrolice la lactosa. El principal competidor es la enzima beta-galactosidasa de <i>Kluyveromyces fragilis</i> , que funciona de manera óptima a 35-40°. La principal diferencia que tendrá la solución es la capacidad de funcionar de manera óptima a 20° o menos. Los principales beneficios de la solución será deslactosar leche a baja temperatura de forma más eficiente, lo que permitirá optimizar procesos de deslactosado, como por ejemplo el de la leche que posteriormente será deshidratada.

Descripción del Logro	<p>El proyecto logró satisfactoriamente el Resultado "Extracto enzimático microbiano eficiente en deslactosar leche a baja temperatura". Se obtuvo el mencionado extracto, el cual en promedio, logra deslactosar un 97 por ciento o más de la lactosa de la leche, superando largamente el mínimo estimado como atributo cuantificable (40 por ciento). Las condiciones de uso para lograr el resultado fueron las siguientes: se deben agregar 3U de extracto enzimático por cada mililitro de leche descremada, e incubar a 10 grados Celsius con agitación mínima de 30 rpm durante 8 horas. Como se observa, el resultado se logra a 10 grados Celsius, es decir, muy por debajo de los 20 grados Celsius, tal como se indica en la descripción del resultado. Otras características del resultado son las siguientes: Presentación: se presenta como extracto líquido. Competidores: Lactasas Biocon, Lactasas Grupo Proquiga (LactaproQ), Lactasas DSM. Diferencias funcionales, operacionales y productivas respecto al mejor competidor o sustituto: Las enzimas actualmente en uso tienen una temperatura óptima cercana a los 45 grados Celsius, por lo que su acción en condiciones de baja temperatura es deficiente, lo que se corrige incrementando la cantidad de enzima respecto a lo necesario para procesos a temperatura ambiente. Nuestro producto deslactosa leche a 10 grados Celsius en forma eficiente, por lo que se proyecta que optimizaría los procesos de deslactosado en frío. Beneficios que las diferencias mencionadas le generarán al productor, usuario intermedio y/o usuario final: En el proceso actual, el producto permitirá optimizar los procesos de deslactosado en frío, como el deslactosado de la leche destinada a leche en polvo. También se podrá revisar el actual proceso de deslactosado de la leche líquida, el que se realiza a temperatura ambiente luego de la pasteurización. En el mismo sentido, se abren posibilidades para mejoras en los procesos de producción de manjar, queso y yogurt. Quiénes lo producirían Los encargados de producirla son compañías productoras de enzimas con grado alimenticio. En Chile no hay industria consolidada productora de enzimas, sólo una pequeña empresa y que se podría beneficiar de éste producto, de lo contrario debería ser una empresa extranjera.</p>
-----------------------	--

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO	
Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	Seminario
Descripción	El objetivo es dar cuenta de los avances logrados en el proyecto y difundir sus posibles aplicaciones en implicancias entre investigadores, productores y estudiantes.

Descripción del Logro	<p>Con fecha 29 de agosto de 2017 se realizó el seminario programado por el proyecto. A esta actividad se invitó a actores de distintas instancias (investigadores, productores, estudiantes, representantes de Fondef y de las otras instituciones involucradas en el proyecto). En este acto se dio cuenta pública de los avances logrados en el proyecto, y se difundieron sus posibles aplicaciones e implicancias futuras.</p>
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	Visita a socios estrategicos para la implementacion de la etapa II
Descripción	Biópolis es un spin-off español que apoya este proyecto, con el fin de participar en la transferencia tecnológica, si es que es exitoso. El objeto del viaje es concordar con ellos la implementación de la eventual etapa II del proyecto. Durante el mismo viaje se pretende visitar a uno de los grandes productores de enzimas, que en el contexto de un futuro negocio tecnológico, serán vitales. Específicamente, se contempla una visita a una empresa de enzimas (por ejemplo Oenobrand-DSM de Francia).

Descripción del Logro	<p>El martes 11 de julio de 2017, el investigador responsable del proyecto se reunió con el CEO de Biópolis SL, Sr. Daniel Ramón, en la sede de la empresa ubicada en la ciudad de Valencia, España. Biópolis es la empresa que apoya el proyecto. En dicha reunión, el investigador responsable informó sobre el estado de avance del proyecto y los principales resultados del mismo. Bajo el análisis de esa información, la empresa evaluó la factibilidad de la implementación de una segunda etapa. En concreto, si bien la empresa valora el avance y la actividad enzimática se ve promisorio, ve dos problemas técnicos que no hacen posible que se pueda proyectar la segunda etapa, al menos en lo inmediato. Estos problemas técnicos son que el nivel de purificación de la enzima es aún insuficiente, y que la cantidad de enzima que se obtiene es muy baja para su escalamiento industrial. Para solucionar estos problemas, Biópolis propone la producción de la proteína recombinante heteróloga en otro sistema. Desde el punto de vista técnico esto sería posible de hacer, ya que recientemente (año 2017) se ha publicado el genoma de la especie <i>Metschnikowia australis</i> (de la cual se obtiene nuestra enzima), que antes no estaba disponible. Sin embargo, esto requeriría la implementación de un proyecto previo de prospección, distinto al actual, para realizar esta tarea. Una vez que la proteína logre ser expresada y purificada en grandes cantidades, y se haya analizado su comportamiento respecto a la enzima comercial, Biópolis volverá a analizar esos datos para decidir si patrocina la implementación de una segunda etapa en el futuro.</p>
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	Tesis
Descripción	Tesis de grado realizada en el marco del proyecto

Descripción del Logro	El día 12/08/16, la estudiante Estrella Silva Pavez realizó la presentación de su trabajo de título para obtener el grado de Ingeniera en Biotecnología de la Universidad de Santiago de Chile. Este trabajo se enmarca dentro de la investigación desarrollada en este proyecto y fue dirigido por el investigador responsable del proyecto (Renato Chávez). El trabajo de título se denomina "Caracterización de un extracto con actividad beta-galactosidasa proveniente de la levadura antártica <i>Metschnikowia australis</i> y su potencial uso para deslactosar leche a bajas temperaturas", y fue calificado por la comisión evaluadora con nota máxima. De esta forma, la Srta. Silva cumplió todos los requerimientos para obtener el grado de Ingeniera en Biotecnología de la Universidad de Santiago de Chile. Cabe destacar que para salvaguardar aquellos aspectos de la tesis que pudieran ser susceptibles de patentamiento, la presentación se realizó de forma privada y el escrito de la Tesis fue sometido a embargo por parte de la biblioteca respectiva, por un período de 5 años, lapso en el cual el escrito no estará disponible de forma pública.
-----------------------	--

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	Congreso
Descripción	Difusión de resultados no patentables en evento científico relacionado con el área de la ciencia antártica, microbiología, biotecnología, enzimología, o similar

Descripción del Logro	Se presentaron resultados no patentables en el 17th European Congress on Biotechnology realizado en Cracovia, Polonia, entre los días 3 y 7 de julio de 2016. Los resultados se presentaron el día 5 de julio de 2016 en modalidad de póster, bajo el título "Beta -galactosidase activity in microorganisms isolated from Antarctic environments". La presentación fue realizada por el Director Alterno del proyecto, José Luis Palacios, quien viajó al Congreso financiado por el proyecto.
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.06.1100
--------------------------	---

RESULTADO DE PRODUCCIÓN

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Producto	1	1

RESULTADO DE PRODUCCIÓN CIENTÍFICA (EX "OTROS")

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Evento	2	2
Tesis o Proyecto de título	1	1
Cooperación Internacional recibida o entregada	1	1

2.3 Informe financiero a la fecha de término

	Montos Comprometidos según Convenio por fuente de financiamiento	Monto Girado por Fondef	Gastos financiados por fuente de financiamiento	%
FONDEF	150.000.000	150.000.000	145.856.445	75,62 %
FONDEF	150.000.000	150.000.000	145.856.445	37,81 %
Institución(es) Beneficiaria(s)				
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE	44.256.000	No Aplica	47.033.068	24,38 %
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE	44.256.000	No Aplica	47.033.068	12,19 %
Empresas y otras Entidades Asociadas	0	No Aplica		0 %
Totales	194.256.000	150.000.000	192.889.513	50 %

Monto por Reintegrar		4.143.555		
Monto Reintegrado a FONDEF		(0)		
Costo Final del Proyecto		385.779.026		

2.4 Autoevaluación de la Ejecución del Proyecto

El(la) Representante Institucional de cada Institución Beneficiaria
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
<p>La ejecución del proyecto IDeA-FONDEF ID14I10098 “Enzima de origen Antártico con actividad beta-galactosidasa, altamente eficiente en deslactosar leche a baja temperatura” ha permitido dotar a nuestra Universidad de infraestructura para análisis y purificación de enzimas, en particular, beta galactosidasas de origen antártico. La dinámica del proyecto en cada una de sus etapas fue desarrollada en forma paulatina, superando los obstáculos que se presentaron y logrando cumplir con los objetivos planteados al comienzo del proyecto. En el marco del proyecto se tituló una estudiante de Pregrado de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de nuestra Universidad, y se logró la difusión de los resultados mediante una presentación en un congreso internacional. Desde el punto de vista de la transferencia tecnológica, nuestra universidad continuará desarrollando acciones que permitan que las tecnologías obtenidas lleguen a la industria y logren impactos en la eficiencia del proceso, como ha sido evaluado en los resultados del proyecto.</p>

El(la) Director(a) del proyecto
<p>Desde el punto de vista de la ejecución del proyecto, este transitó en general de forma fluida. El mayor inconveniente técnico relevante en la ejecución fue que los microorganismos analizados contenían muy poca actividad enzimática. Esto llevó a que, para conseguir la cantidad de extracto enzimático necesario para realizar la prueba organoléptica, se requirieran casi 3 meses. esto demoró bastante la culminación del proyecto, lo cual fue subsanado gracias a una prórroga concedida por Fondef. Respecto a aspectos administrativos, el mayor problema lo constituye las restricciones a nuestra Universidad está sometida por ser institución pública (Chilecompra, Contraloría, etc.). Esto demora enormemente los procesos de compra. Respecto a las entidades asociadas, todas tuvieron muy buena disposición para participar en el proyecto. Se destaca positivamente en esto el Instituto Antártico Chileno, que puso a disposición del proyecto un completo cepario de bacterias.</p>

2.5 Propuesta de Continuidad de la(s) Institucion(es) Beneficiaria(s)

Como continuación de la línea de investigación, se han definido varios impactos futuros que se resumen a continuación: Impactos económicos-sociales: Se establecerán nuevas acciones de investigación para la optimización del proceso de deslactosado de leche, en la producción de leche en polvo deslactosada, se intensificarán contactos con compañías que produzcan enzimas y se prospectará la producción de nuevos productos sin lactosa, cuya etapa de deslactosado requieran frío. Impactos científicos-tecnológicos: Se publicarán resultados en revistas científicas y se generarán nuevos proyectos científicos en el tema. Impactos Institucionales: se harán pruebas a escala piloto para acercar la validación del prototipo a nivel industrial, y se generarán nuevas iniciativas en el área usando las capacidades instaladas. Impactos Regionales: Dada la naturaleza del proyecto, el impacto está circunscrito a las regiones productoras de leche como las de Los Ríos y Los Lagos, donde debería haber una tendencia a la generación de productos sin lactosa y a la Región de Magallanes, donde se debería generar una mayor actividad científica de en el continente antártico. Para cumplir con esos compromisos, la Universidad de Santiago asume los siguientes compromisos: - Mantener y potenciar la línea de investigación en enzimas antárticas en forma indefinida, para continuar con el avance en este y otros proyectos relacionados a esta temática. - Poner a disposición de los investigadores la infraestructura y equipos asociados al proyecto para estos fines. - Mantener el contacto con empresas interesadas en esta tecnología. - Poner a disposición del proyecto los profesionales de la Dirección de Gestión y Transferencia Tecnológica de la Universidad, quienes evaluarán y asesorarán en todos los aspectos necesarios para la valorización, comercialización y transferencia de los resultados del proyecto, así como en los mecanismos de protección de los resultados y el manejo de los potenciales beneficios institucionales que produzca la tecnología. Así, nuestra universidad continuará desarrollando acciones que permitan que las tecnologías obtenidas lleguen a la industria.