

La Red Científica Iberoamericana (RedCIbe) difunde los avances médicos y de la salud de América Latina, España y Portugal que contribuyen al progreso de las ciencias médicas de la región.

La RedCIbe, como parte integrante del programa Actualización Científica sin Exclusiones (ACisE), publica en esta sección de Salud(i) Ciencia entrevistas, artículos e informes territoriales o especializados de calificados profesionales comprometidos con la salud de Iberoamérica.

Peptona papaínica de corazón de vaca como fuente de nutrientes para los microorganismos

Beef heart papainic peptone as a source of nutrients for microorganisms

Raisa Zhurbenko

Doctora en Ciencias de los Alimentos,
Jefa del Departamento de Investigaciones de Medios de Cultivo, Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, Cuba

Claudio Rodríguez Martínez

Doctor en Ciencias Técnicas, Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, Cuba

Tamara Lobaina Rodríguez

Master en Ciencias, Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, La Habana, Cuba

Orestes Darío López Hernández

Master en Ciencias, Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, Cuba

Diana Rosa Viera Oramas

Master en Ciencias, Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, La Habana, Cuba

Acceda a este artículo en siicsalud



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)



Especialidades médicas relacionadas,
producción bibliográfica y
referencias profesionales de los
autores, autoevaluación.

Las peptonas y los extractos proteicos son excelentes fuentes naturales de aminoácidos, péptidos y proteínas para el cultivo de los microorganismos. El número de estos productos disponibles en el mercado es significativo. Ellos se obtienen, tradicionalmente, por la digestión enzimática o hidrólisis ácida de sustratos naturales de origen proteico, tales como carne de vaca, leche, caseína, gelatina, plantas o biomasa de microorganismos.

Estos sustratos son proteínas de alto valor nutritivo, todas comprometidas con la alimentación humana. Por esta razón, varios autores realizan numerosos intentos de obtener peptonas a partir de fuentes de proteínas no tradicionales y subproductos, utilizando para ello los residuos de la industria pesquera, subproductos de la industria cárnica, microalgas, entre otros. En la actualidad existen informes sobre la utilización de tejidos animales, procedentes de porcinos y equinos, o la combinación de ambos.

El corazón de vaca es un subproducto de la industria cárnica y su valor nutritivo es menor que el de la carne. La presencia de grasa, tejido conectivo y vascular lo hacen menos atractivo para la producción de peptona y resulta en un desafío tecnológico obtener un producto de alta calidad que promueva el crecimiento microbiano de ma-

nera similar a la peptona de carne de vaca, usualmente conocida como peptona bacteriológica.

Varios autores han desarrollado métodos para la obtención de los digeridos del músculo de corazón animal como ingredientes de medios de cultivo para los microorganismos. Para esto, es necesaria la comparación del comportamiento de la base nutritiva obtenida con peptonas estándar ya evaluadas previamente.

El objetivo de la presente investigación* consistió en el desarrollo de un método de obtención de la peptona papaínica de corazón de vaca y la comparación de su capacidad de promoción de crecimiento microbiano con las peptonas comúnmente empleadas en microbiología.

Se utilizó corazón de vaca recolectado en el matadero Antonio Maceo, de la Ciudad de La Habana, transportado en vehículos refrigerados a temperatura de 2°C a 8°C y almacenado a temperatura de -20°C por un período de hasta tres meses.

El corazón se sometió a un proceso de limpieza manual, eliminando los tejidos grasos, conectivos y vasculares. El tejido del músculo de corazón de vaca se molió a través de una rejilla con el diámetro de orificio de 3 mm. El picadillo obtenido se mezcló con agua desionizada. Se realizó el tratamiento térmico consistente en hervir la mezcla por 30 minutos. Se filtró por



placa clarificante al vacío, se concentró en un rotoevaporador y se deshidrató por aspersión en un secador piloto para la obtención de la peptona papaínica de corazón de vaca (PPCV).

Se estudió la influencia del pH de hidrólisis y de la cantidad de la enzima papaína sobre la calidad de la PPCV, obtenida mediante un diseño experimental completamente aleatorizado, según un plan factorial 2², ejecutando cada determinación para las variables a analizar por triplicado

(n = 3). Los niveles de papaína a utilizar se determinaron previamente por los autores, según las experiencias preliminares. Como variables a analizar se seleccionaron los contenidos de nitrógeno amínico (Nam), nitrógeno total (Nt), cloruros (en forma de NaCl) y la relación entre nitrógeno amínico y nitrógeno total (Nam/Nt). Se estudió la composición química de PPCV y su capacidad de promoción del crecimiento para varios microorganismos. La determinación de calcio, magnesio, cinc, cobre, hierro, sodio, potasio, cobalto y plomo se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica SP9.

La determinación de la densidad óptica de los cultivos microbianos en el tiempo, para un grupo de cepas microbianas de colección (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* ATCC 6056, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Bacillus subtilis* ATCC 6633) se realizó en un medio especialmente diseñado al efecto que contenía 2% de PPCV; 0.5% de NaCl y 0.1% de Na_2HPO_4 ; pH 7.0-7.2. Los valores de la densidad óptica de los cultivos a 37°C se registraron cada una hora durante ocho horas. Los cultivos de *B. subtilis* se incubaron a 30°C. Los valores se compararon con los obtenidos en un medio formulado con la peptona bacteriológica tomada como referencia (Biotécnica Internacional, México) (PBBI).

Se estudió el desempeño de la PPCV, en comparación con PBBI, y con peptona bacteriológica de Marine Chemicals, India (PBMC), en agar dextrosa de Sabouraud frente a varios microorganismos de la ATCC: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 17111, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 y *Saccharomyces uvarum* ATCC 9080, por el método de siembra por vertimiento en placa.

Se determinó la densidad microbiana en el tiempo estudiando el incremento de la absorbancia a 640 nm (espectrofotómetro PU 8620). Los recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) se realizaron con ayuda de un contador de colonias. Se calculó la desviación estándar de todos los valores de los parámetros químicos. Con los resultados obtenidos en el diseño experimental 2^2 se procedió a adaptar el siguiente polinomio:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2,$$

según López Planes. Los coeficientes "b_n" se calcularon mediante el sistema matricial $B = (X'X)^{-1}X'Y$, donde: Y = matriz de los resultados experimentales; X = matriz de las variables independientes. Su significación para $p < 0.5$ se determinó mediante la prueba de Student. La adecuación del modelo se detectó mediante la prueba de Fisher.

El procesamiento estadístico de los datos experimentales obtenidos en el diseño factorial 2^2 ofreció los modelos siguientes para el Nam, Nt, Nam/Nt y NaCl, respectivamente, todos expresados en porcentaje:

$$\begin{aligned} y &= 2.75 - 0.27x_1 + 0.03x_2 - 0.03x_1x_2 \\ y &= 12.93 + 0.18x_1 \\ y &= 21.27 - 2.36x_1 \\ y &= 5.59 + 0.40x_2 \end{aligned}$$

Al observar los resultados, juntamente con las ecuaciones de regresión obtenidas, se pudo concluir que el pH (x_1) es la variable que ejerce la mayor influencia (inversamente proporcional) sobre el contenido de Nam y, seguidamente, influyó la cantidad de enzima papaína de 700 TU de actividad utilizada (x_2). Se detectó que el Nam

aumentó más en las variantes realizadas con 0.86 g de enzima por un kilogramo de sustrato. La interacción de ambas variables favoreció el incremento de Nam al emplear el valor mínimo de pH 5 y el valor máximo de enzima 0.86 g/kg. Estos resultados correspondieron a la variante tres, con la cual se logró el valor de Nam de $3.07\% \pm 0.05\%$ y se obtuvo una diferencia significativa para $p < 0.05$ de esta variante con respecto a las tres restantes. Se obtuvo diferencia significativa ($p < 0.05$) para el contenido de Nt en la variante cuatro ($13.20\% \pm 0.21\%$), en comparación con las tres primeras. La ecuación de regresión para el Nt mostró la mayor influencia de la variable x_1 con su nivel superior (pH 6.5) sobre el contenido de Nt en el producto final. La relación Nam/Nt alcanzó su mayor nivel para la variante tres del diseño ($23.95\% \pm 0.46\%$) y resultó significativamente diferente ($p < 0.05$) con respecto a los valores de este índice, logrados con las variantes dos ($19.03\% \pm 0.20\%$) y cuatro ($18.79\% \pm 0.36\%$). En cuanto al contenido de NaCl, los valores $5.33\% \pm 0.46\%$; $5.04\% \pm 0.51\%$; $6.13\% \pm 0.24\%$ y $5.84\% \pm 0.34\%$, corresponden a las variantes uno, dos, tres y cuatro, respectivamente.

La nueva peptona mostró un valor reducido de pérdida por desecación (3.17 g/100 g), y el nitrógeno amínico constituye alrededor del 25% del nitrógeno total.

Se observan los resultados del desempeño de la PPCV, en comparación con la PBBI, al estudiar la densidad microbiana en el tiempo.

El hallazgo de que el valor del pH es la variable que influye de manera más significativa sobre el grado de hidrólisis en la producción de peptonas coincide con resultados anteriores divulgados por los autores y por otros investigadores.

El valor más elevado del pH estudiado influyó en el aumento de la solubilidad de las proteínas del tejido del músculo de corazón de vaca al alejarse del punto isoeléctrico de la mayoría de ellas. Este planteamiento se corroboró con la ecuación de regresión para el nitrógeno total, donde se puso de manifiesto la influencia de la variable x_1 con su nivel superior, elevando el valor de Nt al máximo.

A manera de resumen, se puede afirmar que la mejor variante de este diseño resultó ser la número tres, corroborando, de esta forma, la conveniencia de realizar la hidrólisis a pH 5.

Los valores de PD para PPCV se encontraron por debajo del 6%, coincidiendo con los valores informados para los digeridos enzimáticos de corazón deshidratados 2.8%-6% que, a su vez, coinciden con los establecidos para las peptonas bacteriológicas 3.0%-6.0%. Estos hallazgos concuerdan con los informes de Mourey Valdés y col., quienes plantean que para los países con clima tropical, el límite de este indicador se encuentra normalmente en valores iguales o inferiores al 8%. Los niveles alcanzados para este indicador garantizan la mayor estabilidad del producto durante la conservación, al impedir las interacciones químicas.

El análisis del contenido de macroelementos y microelementos demostró que la peptona de corazón desarrollada tiene un elevado contenido de elementos tales como K, Ca y Fe, fundamentales para el crecimiento microbiano y que inciden en la formación del material genético, la síntesis de enzimas y de otros metabolitos fundamentales y los procesos de intercambio de la célula con el exterior.

Los niveles de otros elementos, tales como Mg, Cu, Pb, Zn, Na y Co, resultaron satisfactorios y característicos de las peptonas en general: Mg 206-1000 ppm, Cu 2-5 ppm, Zn 9.2-27 ppm, Co 0.1 ppm, comunicados por Oxoid, para peptonas bacteriológica y de carne (Mg, Co,

Pb, Zn y Co); por Biomérieux para peptona de carne y digerido pancreático de corazón (Mg), y por Solabia para digerido enzimático de corazón (Mg).

Un grupo de aminoácidos de la peptona obtenida en la presente investigación superó el contenido de las peptonas de corazón referidas en la bibliografía. Entre ellos se destacan aminoácidos imprescindibles para el crecimiento de una amplia gama de microorganismos: cisteína, histidina, metionina, fenilalanina y tirosina. El contenido de otros aminoácidos, de suma importancia para la promoción de crecimiento, se asemeja o se encuentra en el rango característico de los productos obtenidos a partir de corazón, comercializados en la actualidad, entre ellos: alanina, glicina, lisina, prolina y triptófano. Haciendo un balance del contenido de aminoácidos, y teniendo en cuenta los resultados del crecimiento microbiano de los microorganismos ensayados en los medios formulados con la peptona de corazón en etapas anteriores, era de esperar que la PPCV, obtenida por el método desarrollado, promoviera adecuadamente el crecimiento de diferentes gémenes microbianos.

Los resultados del presente estudio, relacionados con el aumento de la densidad microbiana en el tiempo, con-

uerdan con los presentados por otros autores, quienes informaron el excelente crecimiento para varios microorganismos en medios líquidos utilizando digerido enzimático de corazón de cerdo.

Se puso de manifiesto la factibilidad de la utilización de PPCV en el cultivo y enumeración de mohos y levaduras al demostrar que la peptona obtenida en este estudio promueve el crecimiento de los microorganismos estudiados de manera equivalente (sin diferencia significativa o menor del 10%) a las empleadas en los medios controles (con PBBI y PBMC). Estos hallazgos coinciden con las investigaciones realizadas por otros autores que demuestran que la utilización de digerido enzimático de músculo de corazón favorece el crecimiento de diferentes microorganismos gramnegativos y grampositivos.

Se puede considerar la PPCV como una peptona bacteriológica, de acuerdo con la norma ISO/TS 11133-1:2000 que establece los criterios para la armonización de la descripción de varios componentes de medios de cultivo. Los índices de calidad y el desempeño de esta base nutritiva la ubican en el rango de productos considerados como peptonas; es apropiada, además, para el cultivo de bacterias y hongos en los medios de cultivo para diagnóstico clínico y sanitario.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2015
www.siic.salud.com

Los autores no manifiestan conflictos de interés.

* Nota de la redacción: La versión completa de este informe incluye tablas y figuras y puede consultarse en www.siic.salud.com/dato/arsiic.php/113774

Bibliografía

- Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C. Bases nutritivas para el cultivo de los microorganismos: Parte 1 – Procesos tecnológicos. *Salud(i)Ciencia* 16(4):420-5, 2008.
- Guadix A, Guadix EM, Páez-Dueñas MP, González-Tello P, Camacho F. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica* 41(1):79-89, 2000.
- Parrado J, Millan F, Hernández Pinzo I, Bautista J, Machado A. Characterization of enzymatic sunflower protein hydrolysates. *J Agric Food Chem* 41(11):1821-5, 1993.
- Kurbanoglu EB, Kurbanoglu NI. A new process for the utilization as peptone of ram horn waste. *J Biosci Bioeng* 94(3):202-6, 2002.
- Zhurbenko R. Metodología para el aprovechamiento de los subproductos de la industria alimenticia y otras proteínas en la evaluación de la calidad sanitaria de los alimentos [Tesis doctoral]. Universidad de La Habana, La Habana, 2005.
- Martone CB, Pérez Borla O, Sánchez JJ. Fishery by-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. *Bioresour Technol* 96(3):383-7, 2005.
- Bhaskar N, Modi VK, Govindaraju K, Radha C, Lalitha RG. Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass. *Bioresour Technol* 98(2):388-94, 2007.
- Morris HJ, Almarales A, Carrillo O, Bermúdez RC. Utilization of *Chlorella vulgaris* cell biomass for the production of enzymatic protein hydrolysates. *Bioresour Technol* 99(16):7723-9, 2008.

- Boucaud-Maitre Y, Carraz M, Cloppet H. Peptone bacteriologique obteniu par digestion papainique de residus de placenta humain. *Ann Pharm Fr* 39(1):65-76, 1981.
- Meat peptones, Hydrolysates and Extract. Organotechnie. France. [Citado el 12 de agosto del 2009]. Disponible en: <http://www.organotechnie.com.meatpept.htm>.
- Pork Heart Infusion – A1504. Solabia. France. [Citado el 12 de agosto del 2009]. Disponible en: <http://www.solabia.fr/solabia/content/NT00004442.pdf>.
- Barnes EM. Bacterial growth on heart digest media in relation to the trypsin preparation used. [Citado el 12 de agosto del 2009]. Disponible en: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119888887/PDFSTART>.
- Rodríguez C, Zhurbenko R, Barroetabeña F, Varela A. Utilization of beef heart for the obtainment of peptone for bacteriology. *Proceedings of the International Congress of Meat Science and Technology*, Ago-Sep 27-1; La Habana, Cuba, 1990.
- López Planes R. Diseño estadístico de experimentos. Coedición de la Universidad Autónoma de Yucatán y la Universidad de La Habana, pp. 1-50, 1994.
- USP 27-NF-22. The United States Pharmacopeia. Twenty Seventh Revision. The National Formulary Twenty seventh edition en CD-ROM User Guide. Reagents. Pancreatic Digest of Casein [monografía en CD-ROM]. United Pharmacopoeial Convention, Inc. Rockville: Staff Liaison; 2004.
- Morris Quevedo HJ, Almarales Arceo A, Romero Viamonte K, Vidal Colás M. Validación de un método potenciométrico

para la determinación de nitrógeno amínico en hidrolizados proteicos de microalgas. *Rev Cubana Farm* 36(1):56-61, 2002.

17. Tecator. Determination of Kjeldahl nitrogen content with Kjeltec System 1026. Application Note, Sweden, 1987.

18. Runova VF, Bendas LG, Maksimova GA, Preobrazhenskaya EI, Raskin BM, Mielnikov VA. Metodicheskie ukazania po primienieniyu fiziko-khimicheskikh mietodov kontrolia pitatielnikh sried. Moscú (URSS): Ministierstvo Zdravokhranienia SSSR, pp. 5-10, 1977.

19. Davies MG, Thomas AJ. An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of foodstuffs. *J Sci Food Agric* 24:1525-40, 1973.

20. ISO 6490/1. International Standard. Animal feeding stuffs – Determination of magnesium content – Part 1: Atomic absorption spectrometric method. Geneva (Switzerland): ISO; 1985.

21. ISO 6490/2. International Standard. Animal feeding stuffs – Determination of calcium content – Part 2: Atomic absorption spectrometric method. Geneva (Switzerland): ISO; 1985.

22. Milner BA, Whiteside PJ. Introduction to atomic absorption spectrophotometry. scientific & analytical equipment. Philips. Third Edition. Pye Unicam Ltd., Reino Unido, pp. 38-9, 1984.

23. Standard Operating Procedure. No. 313. National Center For Toxicological Research Division of Chemistry, Analysis for Minerals in Animal Feed; 1994.

24. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th Ed. Methode 27.1.54. Vol. II. Washington, D.C. (USA): Association of Official Analytical Chemists; 1995.

25. Sigma-Aldrich. Biochemicas and Reagents for like Science Research. St. Louis: Sigma-Aldrich, p. 1534, 2000.

26. Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, Quesada Muñoz VJ, Lobaina Rodríguez T, Tsoraeva A, Díaz Pérez M, Durán Vila A, Varela Llanes AE. Manual de Medios de Cultivo. Tercera Edición. Habana (Cuba): ISBN 959-7160-25-0, BioCen, p. 265, 2004.

27. Sonnenwirth AC, Jarret L. Gradwohl métodos y diagnósticos del laboratorio clínico. Tomo 3. Habana (Cuba): Editorial Científico-Técnica, pp. 1233-7, 1983.

28. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal

dilutions. Geneva (Switzerland): ISO; 1999.

29. Camacho F, González-Tello P, Guadix EM. Influence of enzymes, pH and temperature on the kinetics of whey protein hydrolysis. *Food Sci Techn Inter* 4:79-84, 1998.

30. Constituents of the muscle fibers. Section from the book "Experimental Cookery From The Chemical And Physical Standpoint", by Belle Lowe. [Citado el 26 de agosto del 2009]. Disponible en: <http://chestofbooks.com/food/science/Experimental-Cookery/Constituents-Of-The-Muscle-Fibers.html>

31. bioMérieux. Bacteriology. France: bioMérieux; p. 13-5, 1983.

32. BBL. Manual of BBL products and laboratory procedures. USA: Becton Dickinson Microbiology Systems; 1988.

33. Organotechnie. Culture media constituentes. Ed. 1. France: La Courneuve; 1994.

34. Scharlau. Handbook of microbiological culture media. International Edition, 2000.

35. Constantino. Raw materials for the pharmaceutical industry. Torino (Italy): Societá per L'Industria di Prodotti Biochimici; 1990.

36. Mourey Valdés L, Gurria Rafols M, Vidrio Sandre E, Bravo Brash J, Bañales MD. Manual de normas técnicas sanitarias de agentes de diagnóstico. Secretaría de Salud, Subsecretaría de regulación y fomento sanitario. México: Dirección General de Insumos para la Salud, 1990.

37. Panreac. Manual Básico de Microbiología. 3ra Edición. Cultimed, pp. II-1, III-1 – III-9, 2000.

38. Bridson, E. The development manufacture and control of microbiological culture media. Unipath Ltd., p. 181, 1994.

39. Oxoid. Manual. England: Unipath Limited, Basingstoke, Hampshire, RG24 OPW; pp. 277-91, 1995.

40. In vitro cultivation of micro-organisms. Butterworth-Heinemann Ltd. p. 28, 1992.

41. Columbia broth (7127). PI Rev NEW. [Citado el 12 de agosto del 2009]. Disponible en: <http://www.jsunitech.com/product/culture/manual/Columbia%20Broth.pdf>.

42. ISO/TS 11133-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guidelines on preparation and production of culture media - Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory. Geneva (Switzerland): ISO, 2000.

Información relevante

Peptona papaínica de corazón de vaca como fuente de nutrientes para los microorganismos

Respecto a la autora

Raisa Zhurbenko. Doctora en Ciencias de los Alimentos, Ingeniera Tecnóloga. Jefa del Departamento de Investigaciones de Medios de Cultivo, Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, Cuba.

Respecto al artículo

La peptona papaínica del músculo de corazón de res puede ser utilizada como componente fundamental de las combinaciones nutritivas para el cultivo de una gran variedad de microorganismos.

La autora pregunta

Las peptonas y los extractos proteicos son excelentes fuentes naturales de aminoácidos, péptidos y proteínas para el cultivo de los microorganismos.

¿Cuál de estas fuentes se emplea para la obtención de peptonas para los cultivos de microorganismos?

- A La carne bovina.
- B La leche.
- C La biomasa de microorganismos.
- D Todas son correctas.
- E Ninguna es correcta.

Corrobore su respuesta: www.siicsalud.com/dato/evaluaciones.php/148730

Palabras clave

hidrólisis de proteínas, peptona, corazón de res, cultivo de microorganismos

Key words

protein hydrolysis, peptone, beef heart, microorganism culture

Cómo citar *How to cite*

Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, López Hernández OD, Viera Oramas DR. Peptona papaínica de corazón de vaca como fuente de nutrientes para los microorganismos. *Salud i Ciencia* 21(5):531-5, Ago 2015.

How to cite: Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, López Hernández OD, Viera Oramas DR. Beef heart papainic peptone as a source of nutrients for microorganisms. Salud i Ciencia 21(5):531-5, Ago 2015.

Orientación

Clínica

Conexiones temáticas

Bioquímica, Diagnóstico por Laboratorio, Infectología