

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**OBTENCION MICROBIOLOGICA DE UN CONCENTRADO
PROTEICO Y VITAMINICO A PARTIR DE SUBPRODUCTOS
DEL ARROZ**

T E S I S

que para obtener el título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N

EDWARD ZETUNA CURIACA

Y

MARIA DE LOURDES MURCIA FLORES

MEXICO, D. F.

1973

M-172559



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

<i>Presidente</i>	<i>Prof. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS</i>
<i>Vocal</i>	<i>Prof. ENRIQUE GARCIA GALEANO</i>
<i>Secretario</i>	<i>Prof. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN</i>
<i>1er. Suplente</i>	<i>Prof. LIBRADO ORTIZ ORTIZ</i>
<i>2do. Suplente</i>	<i>Prof. JORGE SOTO SORIA</i>

Sitio donde se desarrolló el Tema:

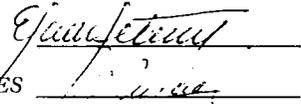
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
DE LA FACULTAD DE QUIMICA
U. N. A. M.

Sustentantes: EDWARD ZETUNA CURIOCA

MARIA DE LOURDES MURCIA FLORES

Asesor del tema: Prof. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN

Supervisor Técnico: Prof. JORGE SOTO SORIA





C O N T E N I D O

1. - GENERALIDADES

I. - EL ARROZ

Clasificación, especies y variedades
Los diversos productos
Producción y precios

II. - LAS LEVADURAS

Clasificación
Caracteres Morfológicos
Composición Química
Requisitos Nutricionales

III. - LAS PROTEINAS

Definición
Aminoácidos Componentes de las Proteínas
Clasificación de las Proteínas
Las Proteínas en la alimentación del ganado

IV. - LAS VITAMINAS

Definición y Clasificación
El Complejo B
El Complejo B en la alimentación del ganado

2. - MATERIALES Y METODOS

I. - MATERIALES

Materias Primas
Medios de Cultivo
Soluciones
Microorganismos

II. - METODOS

Recepción y adaptación de los microorganismos
Hidrólisis del almidón
Obtención de levaduras
Determinaciones analíticas

3. - RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Hidrólisis del almidón
Obtención de levaduras

RESUMEN

BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

Este trabajo constituye el paso inicial de un estudio - destinado a contribuir a solucionar el problema de la falta de ali- mentos protéicos para el ganado y tratar de disminuir el precio- de los piensos compuestos, ya que las materias primas emplea- das fueron subproductos baratos de la industria arrocerá, y el - compuesto obtenido es de un gran valor alimenticio debido a su - riqueza en proteínas y en aminoácidos esenciales.

La parte experimental se llevó a cabo en dos fases :

a). - Hidrólisis previa del almidón, y b) Obtención de Levaduras. El primer paso se realizó con el fin de obtener car- bohidratos en forma asimilable para las levaduras que se obtuvie- ron en el segundo. A los productos obtenidos se les determinó - finalmente su contenido de proteínas y aminoácidos y se investi- gó la presencia de ciertas vitaminas del complejo B.

Los concentrados protéicos y vitamínicos pueden ser - utilizados con el mayor éxito en la alimentación de diversos ani- males, pero muy especialmente en la de cerdos y aves, ya que - éstos no poseen los microorganismos que se encuentran en el - aparato digestivo de los rumiantes y equinos, y que son capaces- de sintetizar las vitaminas y los aminoácidos necesarios para -

ellos. Estos concentrados pueden formar parte importante en la formulación de los piensos compuestos, o bien pueden ser empleados como aditivo para forrajes.



G E N E R A L I D A D E S

I. EL ARROZ

Clasificación, Especies y Variedades (1)

<i>Phylum</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Clase</i>	<i>Angiospermae</i>
<i>Subclase</i>	<i>Monocotiledoneae</i>
<i>Orden</i>	<i>Glumiflorae</i>
<i>Familia</i>	<i>Graminaceae</i>
<i>Subfamilia</i>	<i>Panicodeae</i>
<i>Género</i>	<i>Oryza</i>

Existen dos especies de arroz cultivadas: *Oryza sativa*
L. o arroz asiático, originario de la India e Indochina: *Oryza* --
Glaberrima STEUD o arroz africano, originario del Africano oc-
cidental. La primera se halla más ampliamente distribuída en el

mundo, y es la que se cultiva en mayor cantidad, a tal grado que está substituyendo al cultivo de la segunda aún en el Continente africano; por consiguiente, todo lo que digamos con respecto al arroz se referirá a la especie O. sativa L.

Existen diversas variedades de arroz que se clasifican dentro de los tipos japónica o insular, bulú o intermedia, e india o continental.

La mayoría de las variedades se cultiva en condición acuática, mientras que algunas se cultivan especialmente en condiciones de secano; se trata de variedades propias del cultivo del arroz en secano o en zonas lluviosas, denominadas variedades de sabana o de montaña. La mayor parte de las variedades del cultivo en secano pueden cultivarse perfectamente en forma acuática, pero pocas variedades del tipo acuático se adaptan, por el contrario, a las condiciones del cultivo en secano.

Existen además clasificaciones regionales y locales basadas en gran número de caracteres morfológicos del grano. (espiguilla), cariósipide, órganos foliares y florales.

Los diversos productos (1).

El grano de arroz se encuentra revestido de sus envolturas (glumelas), constituyendo en conjunto el "paddy" o "palay"

o "arroz en paja" o "arroz vestido".

El grano de arroz, para poder ser consumido, debe descascarillarse de las glumelas que lo envuelven; por esta operación se obtiene "arroz descascarillado" o arroz moreno", y un subproducto, las glumelas; un cierto porcentaje de grano de paddy está roto y aparecen partículas ligeras durante el descascarillado; las pequeñas roturas y las partículas muy finas de glumillas y de grano constituyen el "salvado" o "baja harina de arroz cargo" al cual se mezcla un gran número de gérmenes desprendidos durante el descascarillado. Comercialmente al arroz descascarillado, tal como sale del descascarillador se le llama "arroz cargo"; el arroz cargo contiene siempre una pequeña cantidad de palay que ha escapado al descascarillado.

Después del descascarillado, el arroz se somete al blanqueo, con el cual se elimina de la superficie del grano de arroz descascarillado y, del exterior al interior, las diversas capas del paricarpio, así como los tegumentos seminales y la capa de aleurona. De esta manera se obtiene el "arroz blanco" y un subproducto pulverulento constituido por estas capas externas, los "Salvados" o "harinas bajas de blanqueo" con las que están mezcladas proporciones de gérmenes que van del 3 al 7%.

En el curso de las operaciones de blanqueo, unos granos se fragmentan en proporción más o menos elevada, produciéndose roturas de diversos calibres. La mayor parte de los gérmenes es igualmente separada en el curso del blanqueo, los granos fragmentados se separan atendiendo al calibre, y así se obtiene "arroz entero" o de primera calidad, "arroz quebrado" o de segunda calidad y "granillo".

Por último el arroz blanco puede sufrir un pulido y hasta un satinado, operaciones destinadas a mejorar la presentación del arroz.

Producciones y Precios (2, 18).

T A B L A No. 1

CONTINENTE	PRODUCCION MUNDIAL DE CEREALES POR CONTINENTES (2).													
	MUNDIAL		EUROPA		N. C. AMERICA		S. AMERICA		ASIA		AFRICA		OCEANIA	
	PERIODO	1948 1952	1948 1971	1948 1971	1948 1952	1948 1971	1948 1952	1948 1971	1948 1952	1948 1971	1948 1952	1948 1971	1948 1952	1948 1971
	SUPERFICIE (MILLONES DE HECTAREAS).													
TRIGO	173.3	217.2	28.0	27.9	38.9	28.1	6.9	7.2	26.0	44.2	6.5	8.8	4.7	7.2
CENTENO	38.6	19.7	12.2	7.2	1.3	1.2	0.8	0.5	0.5	0.7	---	---	---	---
CEBADA	52.4	82.2	8.9	16.6	7.2	10.5	1.0	1.1	9.7	10.2	5.2	5.6	0.5	2.7
AVENA	54.0	31.2	12.5	7.1	19.9	9.3	0.8	0.6	0.5	0.5	0.4	0.3	0.9	1.3
MAIZ	88.4	112.9	10.4	11.8	35.9	36.5	8.2	16.6	9.1	15.9	10.7	17.4	0.1	0.1
MIJO Y SORGO	93.4	113.4	0.1	0.1	3.5	7.8	0.3	2.7	35.8	40.9	22.1	28.4	0.1	0.6
ARROZ PADDY	102.6	134.9	0.3	0.4	1.1	1.4	2.3	5.7	69.3	89.7	2.8	3.9	---	0.1
T O T A L	610.1	716.6	74.8	72.8	108.7	95.9	20.4	34.4	151.3	202.3	47.9	64.5	5.2	12.0
	RENDIMIENTO (100 Kg./HECTAREA).													
TRIGO	9.9	15.8	14.7	28.5	11.6	21.6	10.7	13.1	8.2	11.7	7.0	10.1	11.3	12.1
CENTENO	9.6	15.7	14.6	21.8	7.9	16.3	7.3	6.2	10.1	12.9	4.1	3.5	4.3	5.1
CEBADA	11.3	18.5	16.9	31.0	14.3	23.4	11.3	10.8	10.4	11.7	6.7	8.5	12.2	10.8
AVENA	11.4	18.5	16.0	26.4	12.7	20.0	10.7	12.0	10.2	12.0	7.0	4.8	7.0	11.1
MAIZ	15.8	27.3	12.4	34.9	22.1	42.5	12.9	16.7	8.6	12.4	8.6	13.0	18.0	32.8
MIJO Y SORGO	5.1	8.9	9.1	30.3	12.1	31.6	8.5	19.6	4.0	5.4	5.7	7.5	13.0	22.2
ARROZ PADDY	16.3	22.8	43.0	46.0	22.1	37.3	17.2	16.3	14.4	19.8	12.9	20.0	31.1	62.4
	PRODUCCION (MILLONES DE TONELADAS)													
TRIGO	171.2	343.1	41.2	79.6	45.1	60.8	7.4	9.5	21.4	51.6	4.6	8.9	5.3	8.7
CENTENO	37.0	30.9	17.8	15.8	1.0	1.9	0.6	0.3	0.5	0.9	---	---	---	---
CEBADA	59.3	152.4	15.0	51.5	10.2	24.6	1.1	1.2	10.1	11.9	3.5	4.8	0.6	2.9
AVENA	61.7	57.7	18.7	25.2	25.2	18.6	0.9	0.7	0.5	0.6	0.3	0.2	0.6	1.4
MAIZ	139.9	307.8	41.2	79.4	79.4	155.3	10.6	27.8	7.8	19.6	9.2	22.6	0.1	0.3
MIJO Y SORGO	47.4	101.1	0.1	0.5	4.3	24.8	0.2	5.3	14.3	22.0	12.7	21.2	0.1	1.3
ARROZ PADDY	167.5	307.4	1.3	1.8	2.5	5.3	4.0	9.2	99.8	177.6	3.6	7.7	0.1	0.3
T O T A L	691.9	1309.0	112.4	213.2	169.4	293.6	24.8	54.0	154.8	284.6	33.9	65.5	6.8	15.0

T A B L A No. 2

Area = 1000 Has.
 Producción = 1000 Tons.
 Rendimiento = 1000 Has.

PRODUCCION DE ARROZ EN NORTE Y CENTRO AMERICA (2).							
PAIS	1948 - 1952	1961 - 1966	1967	1968	1969	1970	1971
BELICE							
Area	1	2	2	2	2	2	2
Producción	2	1	3	2	3	3	3
Rendimiento	20.5	9.2	19.1	11.2	20.6	18.1	18.1
COSTA RICA							
Area	25	52	38	40	38	47	50
Producción	35	72	104	109	78	94	101
Rendimiento	14.2	14.1	27.6	27.2	20.4	20	20.3
CUBA							
Area	61	116	60	85	146	179	180
Producción	106	172	93	133	293	450	452
Rendimiento	17.4	14.8	15.5	15.6	20.1	25.2	25.1
R. DOMINICANA							
Area	44	63	81	88	82	82	82
Producción	70	131	147	181	195	210	210
Rendimiento	15.9	20.6	18.2	20.6	23.8	25.6	25.6
EL SALVADOR							
Area	15	11	28	27	11	12	12
Producción	26	26	78	80	36	44	45
Rendimiento	16.9	23.4	27.8	29.2	33.3	37.2	37.5
GUATEMALA							
Area	8	10	12	14	14	9	12
Producción	9	17	21	25	27	15	18
Rendimiento	11.8	17.1	17.7	18.5	19.3	15.5	15.9
HAITI							
Area	28	35	34	34	34	34	34
Producción	28	39	37	37	37	37	37
Rendimiento	10	11.2	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
HONDURAS							
Area	11	14	17	18	18	19	19
Producción	18	24	25	32	24	33	33
Rendimiento	16.4	16.5	14.7	18	13.3	17.8	17.8
JAMAICA							
Area	3	3	1	7	2	2	2
Producción	6	4	1	3	4	4	4
Rendimiento	20	16.5	10	17	16.2	16.1	16.1
MEXICO							
Area	96	139	173	139	147	150	150
Producción	173	305	417	347	371	383	383
Rendimiento	17.9	21.9	24.1	25	25.3	25.5	25.5
NICARAGUA							
Area	22	23	26	32	38	40	43
Producción	31	34	64	86	86	109	74
Rendimiento	13.9	14.5	24.7	26.9	22.9	27.3	17.3
PANAMA							
Area	62	111	130	129	126	91	100
Producción	83	122	151	163	165	124	135
Rendimiento	13.3	10.9	11.7	12.7	13.1	13.6	13.5
PUERTO RICO							
Area	3	4	--	--	--	--	--
Producción	2	2	--	--	--	--	--
Rendimiento	6	5.8	--	--	--	--	--
TRINIDAD Y TOBAGO							
Area	7	6	6	6	6	6	6
Producción	18	10	10	10	10	10	10
Rendimiento	25.1	17.1	16.7	16.7	16.7	16.7	16.7
E. E. U. U.							
Area	752	705	797	952	861	734	734
Producción	1925	3084	4054	4721	4120	3758	3820
Rendimiento	25.6	43.7	50.9	49.6	47.9	51.2	52
T O T A L							
Area	1146	1294	1408	1571	1528	1410	1429
Producción	2537	4042	5207	5931	5451	5276	5327
Rendimiento	22.1	31.2	37	37.8	35.7	37.4	37.3

T A B L A No. 3

PRODUCCION Y PRECIOS DE CEREALES EN MEXICO (18).

CULTIVO Y AÑO	SUPERFICIE COSECHADA (MILLARES DE HECTAREAS)	PRODUCCION		RENDIMIENTO POR HECTAREA (KILOGRAMOS)	PRECIO MEDIO RURAL (PESOS POR TONELADAS)
		CANTIDAD (TONELADAS)	VALOR (MILLARES DE PESOS)		
ARROZ PALAY					
1966	153	362227	418759	2439	1130
1967	168	416846	781586	2480	1875
1968	157	383162	718429	2440	1875
1969	147	370819	695286	2529	1875
1970	150	402264	576847	2688	2075
MAIZ					
1966	8287	9271485	8508360	1119	920
1967	7611	8597038	8081216	1130	940
1968	7728	9021042	8479779	1167	940
1969	6872	8208350	7715849	1194	940
1970	7419	9040558	8498125	1219	940
TRIGO					
1966	727	1611947	1417230	2218	880
1967	751	2059852	1765293	2744	857
1968	696	1766184	1513620	2539	857
1969	831	2376726	2036854	2851	857
1970	723	2216369	1899428	3065	857

II. LAS LEVADURAS

Clasificación (7)

Las levaduras son hongos que pertenecen al Phylum --- Eumycophyta y pueden ser divididas en los tres grupos siguientes:

1. - *Levaduras productoras de ascosporas. Son organismos pertenecientes a la clase Ascomycetae; familia Saccharomycetaceae.*

2. - *Levaduras productoras de balistosporas. Son organismos pertenecientes a la clase Deuteromycetae u hongos imperfectos, aunque se les ha clasificado dentro de la clase Basidiomycetae (Sainclivier, 1962); familia Sporobolomycetaceae.*

3. - *Levaduras que no producen ni ascosporas ni balistosporas. Son organismos pertenecientes a la clase Deuteromyce-tae; familia Cryptococcaceae.*

La Taxonomía aparece en la tabla No. 4.

TABLA No. 4

TAXONOMIA DE LAS LEVADURAS. (7)				
FAMILIA	SUBFAMILIA	TRIBU	GENERO	
<i>Saccharomyce- taceae.</i>	<i>Eremascoideae</i>		<i>Eremascus</i>	
	<i>Endomycetoideae</i>		<i>Endomyces</i> <i>Schizosaccharomy- ces</i>	
	<i>Saccharomyce- taceae.</i>		<i>Endomycopseae</i>	<i>Endomycopsis</i>
			<i>Saccharomyce- teae.</i>	<i>Saccharomyces</i> <i>Pichia</i> <i>Hansenula</i> <i>Schwanniomyces</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Saccharomycopsis</i>
				<i>Nadsonieae</i>
	<i>Nematosporoideae</i>		<i>Monosporella</i> <i>Nematospora</i> <i>Coccidiascus</i>	
<i>Lipomycetoideae</i>		<i>Lipomyces</i>		
<i>Sporobolo- mycetaceae</i>			<i>Sporobolomyces</i> <i>Bullera</i> <i>Tilletiopsis</i> <i>Itersonilia</i>	
<i>Cryptoco- ccaceae</i>	<i>Cryptococcoideae</i>		<i>Cryptococcus</i> <i>Torulopsis</i> <i>Pityrosporum</i> <i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Kloeckera</i> <i>Trigonopsis</i>	
		<i>Trichosporoideae</i>	<i>Tricosporon</i>	
	<i>Rhodotoruloideae</i>		<i>Rhodotorula</i>	

Caracteres Morfológicos (17)

El tamaño de las levaduras es variable entre 1 a 9 μ de ancho por 2 a 20 μ o más de largo. Su forma es diversa, pero por lo general es ovoide. Cada especie tiene forma y tamaño característicos, pero pueden variar según el medio y la edad. Las estructuras que se pueden observar al microscopio son la pared celular, membrana citoplásmica, citoplasma, vacuolas, gránulos metacromáticos, mitocondrias, ribosomas y núcleo.

Composición Química (7)

a) *Minerales (análisis de las cenizas):*

1. - Pentóxido de fósforo; P_2O_5
2. - Oxido de potasio; K_2O
3. - Oxido de sodio; Na_2O
4. - Oxido de calcio; CaO
5. - Oxido de magnesio; MgO
6. - Oxido de silicio; SiO_2
7. - Trióxido de azufre; SO_3
8. - Cloruros; Cl^-
9. - Oxido ferroso; FeO

b) *Vitaminas:*

1. - Acido fólico
2. - Tiamina

3. - *Riboflavina*
4. - *Acido pantoténico*
5. - *Niacina (ácido nicotínico)*
6. - *Biotina*
7. - *Acido p-aminobenzóico*
8. - *Piridoxina*
9. - *Inositol*
10. - *Vitamina A*
11. - *Vitamina D (ergosterol irradiado con luz U. V.)*

c) *Aminoácidos:*

1. - *Aminoácidos libres*
2. - *Aminoácidos combinados*

d) *Acidos nucléicos y sus bases constituyentes:*

1. - *Acidos nucléicos*
2. - *Bases púricas y pirimídicas*

e) *Carbohidratos:*

1. - *Glucógeno*
2. - *Inositol*
3. - *Mananas (polisacárido de manosa de P.M. \pm 50 000)*
4. - *Otros carbohidratos*

f) *Lípidos:*

1. - *Triglicéridos*

2. - *Glicerofosfátidos*

3. - *Cerebrósidos*

4. - *Esteroles*

5. - *Escualeno*

6. - *Carotenoides*

g) *Pigmentos:*

1. - *Tetrapirroles*

2. - *Otros pigmentos*

h) *Proteínas y enzimas (pueden representar hasta al 50% o más del peso de la levadura).*

i) *Agua*

Requisitos Nutricionales (3, 7)

a). - *Carbono. - Las levaduras pueden utilizar como fuentes de carbono hexosas simples, glucosa, fructosa y manosa. Ciertos disacáridos también son fácilmente utilizables, la sacarosa y la maltosa son de las más usadas en los cultivos comerciales de la levadura. Además se ha encontrado (Fink, Krebs, Lechner, Illig, Bokorny & Sperber) que pueden utilizar inmediatamente o después de cierto período de adaptación, los siguientes compuestos:*

Acido Láctico

Metanol

Acido acético

Etanol

<i>Acido succínico</i>	<i>n-propanol</i>
<i>Acido fumárico</i>	<i>i-butanol</i>
<i>Acido tartárico</i>	<i>n-butanol</i>
<i>Acido málico</i>	<i>sec-butanol</i>
<i>Acido acetoacético</i>	<i>aceteldehído y otros más</i>
<i>Acido aspártico</i>	
<i>Acido glicérico</i>	

Las diferentes especies de levaduras varían en su capacidad de utilizar los diversos compuestos de carbono. Por ejemplo, Candida utilis puede utilizar la pentosa xilosa, y puede, por lo tanto desarrollarse en un medio de hidrolizado de madera. El género Saccharomyces no puede metabolizar las pentosas.

b). - Nitrógeno. - Las sales inorgánicas de amonio y los aminoácidos son bien utilizados por las levaduras como fuentes de nitrógeno.

c). - Minerales. - Las exigencias de azufre se satisfacen con el sulfato que contenga el medio, aunque algunas levaduras utilizan el azufre que se encuentra en algunos aminoácidos como la metionina y cisteína. Los fosfatos inorgánicos satisfacen las exigencias de fósforo. Entre otras necesidades de minerales se encuentran el potasio, sodio, calcio, y magnesio. También - deben estar presentes vestigios de cobre, zinc, hierro, magne--

sio, cobalto, yodo, molibdeno y boro.

*Existen variedades de levaduras que crecen en altas --
concentraciones de azúcar o de sal.*

*d). - Condiciones de crecimiento. - Las levaduras cre-
cen más vigorosamente en cultivos aireados que en los no airea--
dos, y el crecimiento es aún mayor con la agitación. Bajo condi-
ciones de estricta anaerobiósis, el crecimiento es el mínimo, --
mientras que la fermentación es la máxima. La estimulación del
crecimiento por la aireación y la agitación se debe no solo al su-
ministro adecuado de oxígeno, sino también a la eliminación de -
bióxido de carbono.*

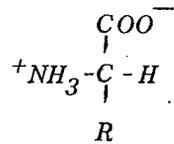
*La temperatura y el pH óptimos de desarrollo varían se-
gún la estirpe de que se trate. Por lo general, la mayoría de las -
levaduras crecen en un rango de temperatura de 15 a 30°C. En --
cuanto al pH varía de 4 a 6, siendo a menudo el óptimo de 4.5.*

III. LAS PROTEINAS

Definición (15, 23)

*Las proteínas están compuestas de dos o más cadenas -
de polipéptidos o sea que son polímeros de aminoácidos y todos --
estos aminoácidos, excepto dos, tienen un grupo amino unido al -
átomo de carbono que sigue al que lleva el grupo carboxilo, en la*

posición alfa; esto es, son α -aminoácidos. Su fórmula es:



En la que R^- , llamada la cadena lateral del aminoácido o residuo representa gran variedad de estructuras. El número de residuos de cada uno de los aminoácidos, el arreglo lineal de estos residuos a través de las cadenas, el arreglo tridimensional producido por el doblamiento y enrollamiento de las cadenas de péptidos y el arreglo de cada una de éstas con respecto a las demás, todo contribuye a la estructura de la molécula de proteína.

Aminoácidos Componentes de las Proteínas (23)

Los aminoácidos que componen las proteínas son 21 y podemos clasificarlos de la siguiente manera:

a). - Aminoácidos alifáticos. Compuestos en cadena:

1. - Ácidos monoaminomonocarboxílicos. De reacción neutra; glicina o glicocola, alanina, serina, cisteína, treonina, metionina, valina, leucina, isoleucina.

2. - Ácidos monoaminodicarboxílicos. De reacción ácida: ácido aspártico, ácido glutámico (existen dos derivados de estos ácidos que son la asparagina y la glutamina).

3. - *Acidos diaminomonocarboxilicos. De reacción básica: lisina, hidroxilisina, arginina.*

4. - *Acidos diaminodicarboxilicos. De reacción neutra: cistina o dicisteína.*

b). - *Aminoácidos aromáticos. Acidos monoaminomonocarboxilicos. De reacción neutra: fenilalanina, tirosina.*

c). - *Aminoácidos heterocíclicos. Acido monoaminomonocarboxilicos. De reacción neutra, con excepción de la histidina que es ligeramente ácida: triptofano, histidina, prolina, 4-hidroxiprolina. De todos los aminoácidos presentes en las proteínas existen algunos que el animal no puede sintetizar, por lo menos en la cantidad requerida y son los llamados aminoácidos esenciales o indispensables. Se ha demostrado que para el hombre son indispensables: la lisina, triptofano, fenilalanina, treonina, valina, metionina, leucina e isoleucina (para las demás especies animales varía un poco).*

Clasificación de las proteínas (23)

En base a sus funciones biológicas las proteínas se clasifican como sigue:

Proteínas catalíticas o enzimas.

" estructurales

" contráctiles

Proteínas de transporte

- " *genéticas*
- " *reguladoras u hormonas*
- " *inmunes*

Según el sistema recomendado por un comité conjunto - de la "American Society of Biological Chemists" y "American Physiological Society" las proteínas se clasifican en los tres grupos - principales de: proteínas simples, conjugadas y derivadas, y cada uno de estos grupos se subdividen en varias clases.

a). - Proteínas simples. - Son aquellas que por hidrólisis dan solamente aminoácidos o sus derivados, se subdividen en: albúminas, globulinas, prolaminas, albuminóides o escleroproteínas, histonas, y protaminas.

b). - Proteínas conjugadas. - Las proteínas conjugadas se componen de proteínas simples combinadas con alguna substancia no protéica llamada grupo prostético, se subdividen de la siguiente manera: nucleoproteínas, mucoproteínas o mucoides, cromoproteínas, fosfoproteínas, lipoproteínas, metaloproteínas.

c). - Proteínas derivadas. - Esta clase de proteínas, - como lo indica su nombre, comprende las substancias formadas - a partir de proteínas simples y conjugadas. Se subdividen en proteínas derivadas primarias y proteínas derivadas secundarias.

Las proteínas derivadas primarias se forman por procesos que producen solamente cambios ligeros en la molécula de la proteína y en sus propiedades. No hay escisión de enlaces peptídicos, o ésta es mínima.

Las proteínas derivadas secundarias se forman de la escisión hidrolítica progresiva de las uniones de péptidos de las moléculas de proteínas. Representan gran complejidad de moléculas, de tamaño y composición de aminoácidos diferentes. Se agrupan, a grandes rasgos, en proteosomas, peptonas, y péptidos, según la complejidad molecular media relativa.

Las Proteínas en la Alimentación del Ganado (14) .

Se sabe que todos los animales deben recibir en su ración, por lo menos, cierta cantidad de proteínas, se ha demostrado que para el hombre y ciertos animales, como el cerdo, las aves, el perro y el gato, la calidad o clase de las proteínas es tan importante como su cantidad.

Los alimentos ricos en proteínas son, en general, más caros que los pobres en ellas, pero ricos en carbohidratos y grasas. Por lo tanto, en la alimentación práctica del ganado conviene conocer la cantidad mínima de proteínas que necesita el animal para el mejor rendimiento. Cuando se cuenta con abundante

alimento, rico en proteínas a bajo precio, se debe determinar la cantidad que pueden consumir los animales, sin sufrir perjuicios. Esto tiene un interés especial porque el consumo de una cantidad excesiva de proteínas arroja una sobrecarga al hígado y a los riñones que tienen que eliminar el exceso de nitrógeno.

Las proteínas necesarias para el crecimiento de los tejidos del organismo o para otros fines como la producción de leche, no podrán ser sintetizadas por el animal si no cuenta con una cantidad adecuada de cada uno de los aminoácidos esenciales. La deficiencia de cualquiera de ellos limitará el aprovechamiento de todos los demás y, por lo tanto reducirá la eficiencia de la ración.

Las necesidades de los animales en los distintos aminoácidos difieren según la clase de animal y según la función que se considere. Ciertos aminoácidos indispensables para el crecimiento no lo son para el sostenimiento del organismo adulto.

Las necesidades de aminoácidos para la producción de leche son análogas a las de crecimiento.

Se ha demostrado que para un buen desarrollo de las gallinas, es necesaria la glicina y probablemente también el ácido glutámico, además de todos los aminoácidos esenciales para el hombre. Las necesidades de aminoácidos para los cerdos son análogas a las del hombre y además requiere de histidina.

Los rumiantes y equinos tienen necesidad de proteínas - mucho más sencilla que los cerdos, las aves y el hombre; ésto se debe a los microorganismos del rumen, que desempeñan un papel importante en la digestión de la fibra por estos animales, pueden alimentarse con compuestos nitrogenados muy sencillos, que otros animales no pueden utilizar directamente. Los microorganismos - a partir de formas sencillas de nitrógeno, sintetizan proteínas celulares complejas. En un lugar posterior del tubo digestivo de los rumiantes se digieren estas células microbianas y sus proteínas - quedan, de este modo, a disposición del animal. Por tanto, estas proteínas microbianas proporcionan todos los aminoácidos esencia les, aunque éstos no estuvieran presentes en los alimentos consumidos por el rumiante.

En el ciego y el cólon de los equinos ocurre un proceso - similar. Otra razón para que la calidad de las proteínas no sea de mayor importancia en la alimentación de las vacas lecheras y de - engorde, las ovejas y los caballos, es que una gran parte de las - raciones que estos animales consumen está integrada de ordinario por forrajes. La calidad de las proteínas existentes en los pas-- tos buenos, en el heno, y en el ensilaje, es superior a la de las - proteínas que contienen los granos de cereales, que casi siempre forman el alimento más importante para los cerdos y las aves.

Las proteínas totales de cada alimento son una mezcla -

de proteínas diferentes. Las proteínas que acompañan a la proteína principal pueden estar compuestas por una combinación diferente de aminoácidos y, por lo tanto, modificar más o menos cualquier deficiencia que aquella tenga. La zeína, que es la proteína principal -- del grano de maíz, por ejemplo, carece de lisina y sólo contiene indicios de triptofano. Estos dos aminoácidos figuran entre los que son esenciales para el crecimiento. Las otras proteínas del maíz compensan estas deficiencias en cierto grado. Aunque un animal joven no pueda crecer con zeína de maíz como única fuente de proteínas, puede crecer lentamente consumiendo granos de maíz enteros como única fuente de principios nitrogenados. Sin embargo, para que se aprovechen íntegramente las proteínas del maíz, debe agregarse algún alimento complementario que proporcione mayor cantidad de lisina y triptofano.

Cuando un alimento o una ración suministran cantidades insuficientes de cualquiera de los aminoácidos esenciales, se dice que contienen proteínas de calidad inferior. Cuando contienen las debidas proporciones de todos los aminoácidos esenciales, se dice que contienen proteínas de alta calidad. Los alimentos proteínicos de calidad inferior no son deficientes en los mismos aminoácidos. Por tal razón, las proteínas de los alimentos de esta clase pueden complementarse mutuamente cuando se incluyen en la misma dieta.

En el hombre, la carencia de tiamina produce el beriberi.

En esta enfermedad se observan los siguientes síntomas: anorexia, pérdida de peso, fatiga y trastornos gastrointestinales. - Al avanzar la enfermedad aparecen trastornos cardíacos.

b). - Riboflavina. - La riboflavina es una de las vitaminas más ampliamente distribuidas entre las del complejo B, pero son muy pocas las fuentes comunes que la contienen en altas concentraciones. Las levaduras son fuente importante de la vitamina.

Se conocen dos coenzimas que son el fosfato de riboflavina o mononucleótido de riboflavina (FMN), y el dinucleótido de flavina y adenina (FAD). Estos dos nucleótidos se combinan con diferentes apoenzimas para formar gran número de enzimas de oxidación-reducción.

Los síntomas de la carencia de riboflavina son los siguientes: inflamación de la lengua, queilosis y fisuras en los ángulos de la boca y en los labios, dermatitis seborréica que a menudo se manifiesta por un aspecto lijoso de la piel en los pliegues nasolabiales y otros lugares, manifestaciones oculares como fotofobia y vascularización de la cornea.

c). - Niacina ó ácido nicotínico (nicotinamida). - En las -

fuentes naturales, la vitamina ocurre como ácido nicotínico libre, ácido nicotínico combinado o nicotinamida en forma de coenzima. - Está distribuída con bastante amplitud en tejidos vegetales y animales.

Las levaduras son fuentes importantes de niacina.

La nicotinamida es la forma en que se encuentra la vitamina en sus combinaciones fisiológicamente activas. Dos coenzi--mas bien definidas contienen nicotinamida. Estas coenzimas actúan con un grupo grande de enzimas de transportes de hidrógeno. La - primera es el nucleótido de nicotinamida y adenina (NAD); la otra - es el nucleótido de trifosfopiridina (TPN), llamado también coenzi--ma II (CO II), ó dinucleótido de nicotinamida y adenina en forma de fosfato (NADP).

En la palagra humana, la carencia no es en general solo de niacina. La respuesta de los enfermos de palagra al tratamiento de niacina es parcial. Es seguro que intervienen carencias de - otras vitaminas del complejo B. Los síntomas de la palagra pue--den diferir muchísimo de un caso individual a otro y pueden ser: - dermatitis acompañada de pigmentación (exagerada por la luz so--lar), y eritema de la lengua que a menudo se alisa y atrofia, lesiones nerviosas en especial en las etapas avanzadas, lesiones gastrointestinales que se caracterizan por formación de quistes en el có-

lon, hígado moteado con degeneración grasa.

d). - *Biotina.* - Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza. Las levaduras son ricas en esta vitamina.

La biotina, unida a su proteína específica, está íntimamente asociada con las reacciones de carboxilación.

Es muy difícil que se produzca carencia de biotina ya que los microorganismos del tracto digestivo la sintetizan en cantidad suficiente. Se puede producir manteniendo a los individuos con dietas ricas en clara de huevo cruda y, en estos casos se observa dermatitis, pérdida de pelo, y pérdida del control muscular.

e). - *Vitamina B₁₂ cobalamina.* - Las plantas no contienen vitamina B₁₂. Los microorganismos sintetizan cobalamina, - en especial los que se encuentran en el rumen de los animales herbívoros.

La cobalamina toma parte en dos tipos de reacciones: - isomerización de los ácidos dicarboxílicos y conversión de compuestos dihidroxivecinales a grupos desoxi y monohidroxilos.

La carencia de esta vitamina produce anemia perniciosa.

f). - *Acido Pantoténico.* - El ácido pantoténico está ampliamente distribuido en la naturaleza. La levadura es una fuente-

sobresaliente.

El ácido pantoténico forma parte de la coenzima A, que es un nucleótico de la siguiente composición: adenina-ribosa fosforilada (C-3)-fosfato-ácido pantoténico - β mercaptoetilamina. La coenzima A actúa como un tioster de ácidos carboxílicos y entra en las vías metabólicas en que intervienen muchísimos compuestos.

Se cree que el ácido pantoténico es esencial no solo para la salud física, sino también para la ejecución normal de reflejos - condicionados, lo que constituye la base de la salud mental. En los casos en que se han provocado carencias de esta vitamina se presentaron cambios en la personalidad de los individuos, ya que experimentaron irritabilidad e inquietud, períodos alternos de somnolencia e insomnio y fatiga excesiva después de leve ejercicio. Otras manifestaciones comunes fueron la marcha vacilante y síntomas gastrointestinales.

g). - Piridoxina, piridoxal, piridoxamina, vitamina B₆. - Las levaduras y el salvado de arroz son fuentes muy importantes de vitamina B₆. Esta vitamina está ampliamente distribuida en alimentos tanto de naturaleza animal como vegetal.

La forma activa de piridoxina es la coenzima fosfato de piridoxal. También se encuentran los fosfatos de piridoxina y piridoxamina. El fosfato de piridoxal participa en las reacciones del -

metabolismo de aminoácidos, como la transaminación, decarboxilación y recemización. Cuando se produce carencia de piridoxal se presentan lesiones de la piel y mucosa, y cuando es muy grave se presentan lesiones del sistema nervioso central.

h). - Acido Fólico. - Los vegetales de hoja verde y las levaduras son buenas fuentes de ácido fólico. Muchos microorganismos contienen cantidades apreciables y pueden suministrarlas al hombre y otras especies animales, por síntesis intestinal.

La forma de coenzima es el ácido tetrahidrofólico, cuyo papel es transportar una unidad formiato que es utilizada en la biosíntesis de purinas, serina y glicina.

Es muy difícil que se presente carencia de ácido fólico, a menos que se inhiba el crecimiento microbiano intestinal; cuando esto ocurre se presenta anemia megaloblástica, diarreas y lesiones gastrointestinales.

El Complejo Vitamínico B en la Alimentación del Ganado (8, 14).

En la alimentación animal habría que hacer una distinción entre rumiantes y no rumiantes, ya que las distintas vitaminas del complejo B son sintetizadas por los microorganismos existentes en el aparato digestivo de los rumiantes. Así el rumiante recibe una amplia aportación de estas vitaminas, aunque los ali-

mentos sean pobres en ellas. También se realiza esta síntesis — microbiana en buena proporción en el intestino de los equinos y, — en menor proporción, en el de los demás animales.

La tiamina se encuentra ampliamente distribuida en los — alimentos para el ganado. La levadura y el salvado de arroz son — especialmente ricos en esta vitamina. Las vacas y ovejas no nece- — sitan recibir tiamina en sus alimentos, pues ésta es sintetizada en el rumen. La carencia de tiamina causa polineuritis, pérdida de — apetito, retardo en el crecimiento, debilidad general y finalmente — la muerte.

La levadura es muy rica en riboflavina. Esta vitamina — es de gran importancia práctica para las aves, cuya demanda de — ella es muy elevada. Las demás especies la obtienen en cantidad — suficiente en sus alimentos. Por otra parte, es sintetizada en el — rumen de vacas, ovejas y cabras, con la excepción de los animales jóvenes. La riboflavina es esencial para el crecimiento y para la — debida nutrición en todas las edades. Una deficiencia puede causar trastornos digestivos, debilidad general, afección en los ojos y en la piel y una menor resistencia a las enfermedades. La escasez — en los pollos causa una "parálisis con torceduras en los dedos"; — los huevos que ponen las gallinas con deficiencias en riboflavina, — dan escasos rendimientos de pollos, en los cerdos la deficiencia — causa crecimiento retardado, patas agarrotadas, diarrea crónica,

erupciones de la piel y trastornos de los ojos.

La niacina se encuentra muy distribuída en los alimentos para el ganado, y la levadura es especialmente rica en ella. Esta vitamina también es sintetizada en el rumen. La deficiencia de niacina en los cerdos produce falta de apetito, diarrea intensa, enfermedades de la piel y hasta parálisis; la deficiencia en los pollos causa inflamación de la lengua, crecimiento retardado y mal plumaje.

La levadura y el salvado de arroz son especialmente ricos en el ácido pantoténico. Es necesario para las gallinas, los cerdos y los pavos. En general se encuentran cantidades suficientes en los alimentos, pero puede haber deficiencias en la alimentación de aves y cerdos. Las carencias producen mal desarrollo de los pollos, plumaje áspero y desigual; en las aves adultas, la deficiencia es causa de escaso rendimiento en los huevos incubados; en los cerdos causa mal apetito, crecimiento lento, dermatitis y un paso incierto.

La piridoxina también se encuentra en buena proporción en la levadura y el pulido de arroz, y es sintetizada en el aparato digestivo de los rumiantes. Esta vitamina está tan ampliamente distribuída entre los alimentos usuales, que es raro que las raciones ordinarias del ganado sean deficientes en ella.

La deficiencia determina falta de apetito, mal desarrollo y convulsiones en los cerdos y las aves; en las gallinas produce pérdida rápida de peso, escasa producción de huevo y poco rendimiento de los huevos incubados.

Casi nunca se presentan deficiencias de biotina por estar muy difundida en los alimentos; la levadura la contiene en buena proporción. La biotina es esencial para aves y conejos. La deficiencia de ella determina en las aves síntomas parecidos a los producidos por la deficiencia en ácido pantoténico; en las gallinas se reduce el rendimiento de los huevos incubados, pero no se afecta la producción de huevos.

El ácido fólico abunda en los forrajes. Los síntomas de deficiencia en los pollos son: retraso del crecimiento, mal plumaje y anemia.

La cobalamina se encuentra en los alimentos de origen animal, y los microorganismos la pueden sintetizar en presencia de iones de cobalto. Los síntomas de deficiencia en el cerdo son: crecimiento retardado, incoordinación muscular y mala producción, la anemia no aparece ni en el cerdo ni el pollo.

En raciones con mucho cobalto, la síntesis de vitamina B₁₂ ocurre en el rumen, intestino del cerdo y otras especies.

2

MATERIALES Y METODOS

I. MATERIALES

Materias Primas

Como materias primas se utilizaron granillo de arroz y salvado o harinas bajas de blanqueo, de las siguientes composiciones:

Granillo:

<i>Humedad</i>	8.00%
<i>Cenizas</i>	0.60%
<i>Proteína cruda</i>	10.70%
<i>Grasa cruda</i>	0.40%
<i>Fibra cruda</i>	0.40%
<i>Carbohidratos asimilables</i>	79.90%

Salvado:

<i>Humedad</i>	9.10%
----------------------	-------

<i>Cenizas</i>	4.10%
<i>Proteína cruda</i>	11.00%
<i>Grasa cruda</i>	3.20%
<i>Fibra cruda</i>	6.90%
<i>Carbohidratos asimilables</i>	65.70%

Medios de Cultivo

a) *Medio de Sabouraud: (17)*

<i>Peptona</i>	10 g.
<i>Maltosa</i>	20 g.
<i>Agar</i>	18 g.
<i>Agua</i>	1000 ml.
<i>pH = 6.5</i>	

b) *Medio de Granillo de Arroz-Sales Minerales:*

KH_2PO_4	4.0 g.
$(NH_4)_2SO_4$	7.5 g.
<i>Granillo de arroz</i>	100.0 g.
<i>Agar</i>	18.0 g.
<i>Agua</i>	1000 ml.

c) *Medio de Salvado Enmohecido Modificado:*

(Underkofler) (17)

<i>Granillo de arroz</i>	10.0 g.
--------------------------------	---------

<i>Salvado de arroz</i>	100.0 g.
<i>Solución de sales de</i>	
<i>Underkofler (sol. a)</i>	60 ml.
<i>pH = 4.5</i>	

d) *Medio de Salvado Enmohecido Modificado con sales de Czapeck (5).*

<i>Granillo de arroz</i>	10.0 g.
<i>Salvado de arroz</i>	100.0 g.
<i>Solución de sales de</i>	
<i>Czapeck (sol. b)</i>	60 ml.
<i>pH = 4.5</i>	

e) *Medio de Salvado Enmohecido con sales de Czapeck-HCl*

<i>Granillo de arroz</i>	10.0 g.
<i>Salvado de arroz</i>	100.0 g.
<i>sol. de sales de Czapeck en</i>	
<i>HCl 0.2 N</i>	60 ml.
<i>pH = 4.5</i>	

f) *Medio Líquido de Arroz :*

<i>Granillo de arroz</i>	10.0 g.
<i>Salvado de arroz</i>	1.0 g.
<i>Aceite de maíz</i>	0.5 ml.
<i>Na₂HPO₄</i>	0.5 g.
<i>KH₂PO₄</i>	0.5 g.

NH_4Cl	0.5 g.
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Indicios
Agua.....	100.0 ml.

g) *Medio Líquido de Arroz Hidrolizado :*

Medio líquido de arroz

(medio f) 100.0 ml.

Medio e previamente inoculado con A. oryzae

e incubado a 30°C durante 4 hrs. y agitando 1.0 g.

h) *Medio Sólido de Arroz Hidrolizado :*

Medio g 100.0 ml.

Agar 1.8 g.

i) *Bacto-Micro Assay Agar "Difco" (9)*

Medio recomendado para preparar cultivos stock de Lactobacillus sp. usados en los análisis microbiológicos.

j) *Bacto-Micro Inoculum Broth (Difco" (9)*

Medio recomendado para el cultivo de Lactobacillus sp. utilizados en análisis microbiológicos.

k) *Bacto-B₁₂ Assay Medium USP "Difco" (9)*

l) *Bacto-Riboflavin Assay Medium "Difco" (9)*

m) *Bacto-Niacin Assay Medium "Difco" (9)*

n) *Bacto-Biotin Assay Medium "Difco" (9)*

Soluciones :

a) *Solución de sales de Underkofler (17)*

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	10.33 p.p.m.
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	10.50 p.p.m.
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.33 p.p.m.
HCl	7.3 g.
Agua	1000 ml.

b) *Solución de sales de Czapack (17)*

$NaNO_3$	2.0 g.
K_2HPO_4	1.0 g.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 g.
HCl	0.5 g.
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01 g. (indicios)
Agua	1000 ml.

c) *Reactivo de Nessler: (4)*

KI	3.5 g.
$HgCl_2$	1.3 g.
Agua	70 ml.
NaOH 4N	30 ml.

d) *Reactivo de Underkofler (21)*

$CuSO_4$ Anhidro	37.5 g.
------------------------	---------

<i>Tartrato doble de sodio y potasio</i>	125.0 g.
Na_2CO_3	53.0 g.
KI	1.0 g.
Na_2SO_4	50.0 g.
KIO_3	3.5665 g. (exactamente)
H_2O dest. c. b. p.	1000 ml.

Se ajusta en el potenciómetro a un pH de 9.47

con sol. saturada de NaOH.

e) Solución de Oxalato de Potasio - Yoduro de Potasio: (21)

KI	125 g.
<i>Oxalato de Potasio</i>	250 g.
<i>Agua destilada</i>	1000 ml.

f) Solución de Acido Sulfúrico 7.5 N

g) Solución de Tiosulfato de Sodio 0.05 N

h) Solución de Almidón al 1% en sol. saturada de NaCl

i) Solución de Acido Bórico al 4%

j) Indicador de Rojo de Metilo-Azul de Metileno:

<i>Sol. Alcohólica de rojo de metilo al 2%</i>	2 partes
<i>Sol. Alcohólica de azul de metileno al 2%</i>	1 parte

k) Solución de Hidróxido de Sodio-Tiosulfato de Sodio

NaOH 50.0 g.

Na₂S₂O₃ · 5H₂O 5.0 g.

Agua destilada c. b. p. 100 ml.

l) Solución de Acido Clorhídrico 0.02 N

m) Solución isotónica de cloruro de sodio.

MICROORGANISMOS

TABLA No. 5

<i>Cepa</i>	<i>Procedencia</i>	<i>Medio de Recepción</i>
<u><i>Aspergillus oryzae</i></u>	<i>Lab. Microbiología</i> <i>Fac. de Química</i> <i>U. N. A. M.</i>	<i>Sabouraud</i>
<u><i>Saccharomyces caribajali</i></u>	<i>Lab. Microbiología</i> <i>Fac. de Química</i> <i>U. N. A. M.</i>	<i>Sabouraud</i>
<u><i>Candida Utilis</i></u>	<i>Lab. Microbiología</i> <i>Fac. de Química</i> <i>U. N. A. M.</i>	<i>Sabouraud</i>
<u><i>Lactobacillus leichmannii</i></u> ATCC 7830	<i>Lab. Abbott de</i> <i>México</i>	<i>Bacto-micro assay</i> <i>culture agar</i> <i>"Difco"</i>
<u><i>Lactobacillus casei</i></u> ATCC 7469	<i>Lab. Abbott de</i> <i>México</i>	<i>Bacto-micro assay</i> <i>culture agar</i> <i>"Difco"</i>

II. METODOS

Recepción y Adaptación de los Microorganismos.

A). - Aspergillus oryzae. - Se recibió en un tubo conteniendo medio inclinado de Sabouraud (medio a), para la adaptación se hicieron resiembras en medio inclinado de Granillo de Arroz-Sales Minerales (medio b). Se notó un crecimiento micelial de color blanco a las 24 horas, cambiando a verde olivo después de 48 horas de incubación a 30° C.

B). - Saccharomyces Carabajali y Candida utilis. - Se recibieron en tubos conteniendo medio inclinado de Sabouraud. Para la adaptación se hicieron resiembras cada 48 horas en medio de -- arroz hidrolizado (medio h) inclinado, con un pH original de 6, el cual fue disminuído cada dos resiembras en media unidad de pH hasta llegar a un valor de 4.5.

Hidrólisis de Almidón.

La hidrólisis de almidón se llevó a cabo para obtener carbohidratos en forma asimilable para las levaduras (maltosa y glucosa).

Dicha hidrólisis se realizó utilizando las amilasas producidas por el hongo A. oryzae.

Determinación de las condiciones óptimas para efectuar -

la hidrólisis:

a). - *Tipo y cantidad de inóculo.* - No es conveniente sembrar el hongo directamente en el medio de cultivo, sino que se recomienda preparar un medio sólido a base de carbohidratos y vitaminas, llamado salvado enmohecido; que puede llevar: salvado de trigo y harina de maíz; salvado de trigo y papas; salvado de trigo y malta; etc. (12, 17, 20).

La diferencia entre inocular con una suspensión de esporas del hongo al mosto, e inocular con salvado enmohecido el mismo, estriba en que por el primer método, la hidrólisis del almidón es llevada a cabo por la amilasa que se está produciendo en el mismo medio de cultivo, y por lo tanto, la velocidad de hidrólisis dependerá de la concentración de amilasas que se tenga (o sea de la velocidad de producción de la misma por el hongo), mientras en el segundo caso la amilasa producida por el hongo se va acumulando en el medio sólido que se utilizará como inóculo, de manera que al llevar a cabo la inoculación empieza de inmediato la hidrólisis, ya que la concentración de amilasas en el inóculo es elevada.

Se preparó primeramente un medio de salvado enmohecido (medio c), pesándose diferentes cantidades (0.050 g.; 0.200 g.; 1 g.; 3 g.; 5 g.;) se esterilizaron en cajas petri y a continuación se inoculó el medio con una suspensión acuosa de esporas de

A. oryzae, se incubaron a 30° C durante 48 horas, al cabo de las -
cuales se observó bastante crecimiento de color verde característi-
co.

Se inocularon 10 matraces especiales (llamados en inglés "baffled", y que se muestran en la fig. # 1), conteniendo 100 ml. -
de medio líquido de arroz (medio f con un pH de 4.5) con las canti-
dades de inóculo anotadas en la tabla No. 6. Los matraces se incu-
baron a 30° C con agitación constante a 160 r.p.m. durante 48 ho-
ras tomando muestras periódicamente de 3 ml. para la determina-
ción del porcentaje de azúcares reductores liberados (método yodo-
métrico de (Underkofler) a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30,
32, 34, 36 y 48 horas; con estos datos se obtuvo la gráfica No. 2.

Con el fin de hacer una comparación y determinar el tipo
y cantidad de inóculo adecuados, se preparó un nuevo medio de sal-
vado enmohecido (medio d), para ello se tomaron diversas cantida-
des (0.050 g; 0.200; 1.0 g) de este medio y se procedió a su inocu-
lación como en el caso anterior (ver tabla No. 6).

Se inocularon 6 matraces especiales conteniendo 100 ml.
de medio líquido de arroz estéril (medio f con un pH de 4.5) con -
las cantidades de inóculo anotadas en la tabla No. 6. Se incubaron
a 30° C con agitación constante de 160 r.p.m. durante 48 horas, to-
mando muestras periódicamente de 3 ml. para la determinación -
del porcentaje de azúcares reductores liberados a las 0, 2, 4, 6, 8,

10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 y 48 horas; construyéndose con estos datos la gráfica No. 3.

Se preparó un tercer medio (medio e), se pesaron varias porciones de 1 g. y se esterizaron en cajas petri, se inocularon con la suspensión de A. oryzae y se incubaron a 30°C durante 48 horas, al cabo de las cuales se observó crecimiento micelial de color blanco, al prolongarse la incubación se notó que el crecimiento aumentaba, llegando a producirse esporas de color verde característico hasta después de 96 horas.

Con este cultivo se inocularon dos matraces especiales - conteniendo 100 ml. de medio líquido de arroz estéril (medio f con un pH de 4.5). Los matraces se incubaron a 30°C con agitación - constante a 160 r.p.m. durante 48 horas, tomándose muestras periódicamente de 3 ml. para la determinación del porcentaje de azúcares reductores liberados a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 y 48 horas; con estos datos se obtuvo la gráfica No. 4.

b). - pH. - El pH óptimo de las amilasas, según la literatura consultada, se encuentra entre 4 y 5 (13, 17) además se ha encontrado que valores de pH cercanos al neutro causan una liberación de las amilasas del micelio hacia el medio de cultivo (10, 20).

Para determinar el pH al cual actúan las amilasas empleadas en el presente trabajo, se prepararon 6 matraces especiales -



FIG. 1. - Matrices especiales, llamados en inglés "baffled".

TABLA No. 6

MATRAZ No.	TIPO DE INOCULO (SALVADO ENMOHECIDO)	CANTIDAD DE INOCULO
1a	Medio c	0.050 g.
1b	"	0.050 g.
2a	"	0.200 g.
2b	"	0.200 g.
3a	"	1.000 g.
3b	"	1.000 g.
4a	"	3.000 g.
4b	"	3.000 g.
5a	"	5.000 g.
5b	"	5.000 g.
6a	Medio d	0.050 g.
6b	"	0.050 g.
7a	"	0.200 g.
7b	"	0.200 g.
8a	"	1.000 g.
8b	"	1.000 g.

conteniendo 100 ml. de medio líquido de arroz estéril (medio f) -- con valores de pH de 4, 5 y 7 y con sus duplicados respectivos. Estos matraces se inocularon con 1 g. de salvado enmohecido y se incubaron a 30°C con agitación constante a 160 r.p.m. durante 48 horas, tomándose muestras periódicamente de 3 ml. para determinar el porcentaje de azúcares reductores liberados a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 y 48 horas; con las cifras obtenidas se construyó la gráfica No. 5.

c). - *Temperatura.* - La temperatura a la cual se llevó a cabo este trabajo fue de 30°C.

d). - *Aireación.* - Para obtener la aireación se utilizaron matraces especiales, mostrados en la fig. No. 1, de 300 ml. de capacidad colocados en un agitador marca "Kinet" a 160 r.p.m.

e). - *Antiespumante.* - Como agente antiespumante se utilizó 0.5% de aceite de maíz.

f). - *Tiempo.* - La duración de la hidrólisis de los almidones, antes de llevar a cabo la inoculación de las levaduras, se dedujo de los valores obtenidos de la gráfica No. 4.

Obtención de Levaduras.

El estudio de la conversión de azúcares reductores en proteínas celulares se llevó a cabo utilizando dos levaduras: una aislada

da del pulque, Saccharomyces carabajali, y además Candida utilis, comparándose los resultados obtenidos.

Condiciones de la Fermentación:

a). - Composición química del mosto. - El mosto utilizado durante todo el proceso fue el medio "g" .

b). - Tipo y cantidad de inóculo. - Un matraz especial de 300 ml. de capacidad conteniendo 100 ml. del medio "g" estéril se inoculó con una asado del cultivo de la levadura correspondiente; se incubó a 30°C con agitación constante de 160 r.p.m. por espacio de 48 horas. El inóculo utilizado fue constituido por 3 ml. de este medio.

c). - pH. - El pH al cual se llevó a cabo la fermentación fue el mismo que el de la hidrólisis del almidón.

d). - Temperatura. - La temperatura a la cual se llevó a cabo la fermentación fue de 30°C valor que cae dentro de los límites para el crecimiento de las levaduras que son de 15 a 30°C (2, 7).

e). - Aireación. - Para lograr la aireación se utilizaron matraces especiales con capacidad para 300 ml. y un agitador marca "Kinet" a 160 r.p.m.

f). - Antiespumante. - Como agente antiespumante se utilizó 0.5% de aceite de maíz.

g). - *Tiempo.* - Para determinar el tiempo adecuado de la fermentación se inocularon 2 matraces especiales conteniendo - 100 ml. del medio "g" estéril con un inóculo de 3 ml. de suspensión de S. carbajali, y otros 2 matraces se inocularon con C. utilis.

Los matraces se incubaron a 30°C con agitación constante a 160 r. p. m. durante 96 horas, tomándose muestras cada 12 horas para determinar el contenido de proteínas (método microkjeldahl); obteniéndose con estos valores la gráfica No. 6.

Determinaciones Analíticas.

a). - *Análisis Bromatológico de las Materias Primas.* - El análisis bromatológico de las materias primas se realizó siguiendo los métodos recomendados por la "Association of official Agricultural Chemists" (16).

b). - *Determinación Microquímica de Azúcares Reductores, en Medios de Cultivo por el Método Yodométrico de Underkoffler (21).*

c). - *Determinación de Amonio. Método de Nessler (4).*

d). - *Determinación de Proteínas. Método de Microkjeldahl (16).* Antes de llevar a cabo la determinación del contenido de proteínas en las muestras, éstas se filtraron a través de un filtro "millipore" cuyos poros eran de 0.45 μ de diámetro, guardándose

el líquido del filtrado para la posterior determinación microbiológica de vitaminas. Las biomosas filtradas se lavaron con agua destilada y se filtraron a través del mismo filtro varias veces hasta que las agua del lavado no dieron reacción positiva con el reactivo de Nessler. A las muestras así tratadas se les determinó el contenido de proteínas.

e). - Determinación Cualitativa de Vitaminas por Métodos Microbiológicos (9). - Estas determinaciones se realizaron sobre los filtrados obtenidos de las muestras después de 48 horas del paso anterior. Se investigaron: Cobalamina, riboflavina, niacina, biotina.

f). - Determinación de Aminoácidos. - Este análisis se efectuó en un autoanализador "Technicon" después de la hidrólisis ácida de las proteínas obtenido a las 48 horas de la fermentación.

Estas determinaciones las realizó el laboratorio de bromatología del Instituto Mexicano del Seguro Social.

3

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Hidrólisis del Almidón.

a). - *Cantidad y tipo de inóculo.* - De acuerdo con los datos de la gráfica No. 2, se dedujo que no era necesario inocular -- los medios de cultivo con más de un gramo de salvado enmohecido (medio c); operación que fue confirmada al observarse los datos - de la gráfica No. 3

Por lo que respecta al tipo de inóculo, no se notaron grandes diferencias entre los dos medios empleados (medio c y medio d); a pesar de que se esperaban resultados favorables para el medio con sales de Czapeck (medio d), ya que éste es un medio más rico. Según muestra la gráfica No. 4, los resultados obtenidos al utilizar un nuevo inóculo (medio e) que contenía tanto las sales de Czapeck, como el HCl del medio c, fueron ventajosos sobre los dos primeramente citados, por lo que se eligió como el tipo de inóculo más apropiado.

b). - pH. - De los datos de la gráfica No. 5 se concluyó que el pH más adecuado era de 4.

c). - Temperatura. - La temperatura a la cual se llevó a cabo este trabajo fue de 30° C valor que según la literatura (17) cae dentro de los límites para el mejor crecimiento del hongo.

d). - Aireación. - Para obtener la aireación se utilizaron matraces especiales de 300 ml. de capacidad colocados en un agitador marca "Kinet" a 160 r. p. m.

e). - Antiespumante. - Como agente antiespumante se utilizó 0.5% de aceite de maíz.

f). - Tiempo. - La duración de la hidrólisis, antes de llevar a cabo la inoculación del medio de cultivo con las levaduras, se dedujo de los valores obtenidos de la gráfica No. 4, la cual muestra que a partir de las dos horas se tiene una concentración de azúcares reductores de aproximadamente 2.7% valor que cae dentro de los límites recomendados para el mejor crecimiento de la levadura (7).

En realidad la hidrólisis del almidón continúa hasta el final del proceso, es decir, que a partir de esta segunda inoculación del mosto, trabajan conjuntamente tanto el hongo que produce las amilasas que desdoblan el almidón, como la levadura que utiliza los azúcares como fuente de carbono de su alimentación.

Obtención de Levaduras.

a). - Tipo y cantidad de inóculo. - Se desarrollaron las levaduras durante 48 horas en el medio g. Este crecimiento fue utilizado como inóculo en una proporción de 3%.

b). - pH. - El pH al cual se llevó a cabo la fermentación fue de 4, ya que éste fue el pH óptimo utilizado para la hidrólisis previa del almidón, además de que se ha observado que es un pH adecuado para la producción de levaduras. (2, 7, 19).

c). - Temperatura. - La temperatura a la cual se realizó la fermentación fue de 30°C.

d). - Aireación. - Para lograr la aireación se utilizaron matraces especiales con capacidad para 300 ml. puestos en un agitador marca "Kinet" a 160 r. p. m.

e). - Antiespumante. - Se utilizó 0.5% de aceite de maíz.

f). - Tiempo. - De los datos obtenidos en la gráfica No. 6 se puede concluir que el tiempo óptimo de crecimiento es de 48 horas; tanto para S. carbajali, como para C. utilis.

Determinación Cualitativa de Vitaminas por Métodos Microbiológicos.

Las dos determinaciones se llevaron a cabo en los filtrados de los mostos fermentados durante 48 horas por Saccharomyces

carbajali y Candida utilis. La investigación de la presencia de Ribo flavina, Cobalamina, Niacina y Biotina, indicó resultados positivos en todas las pruebas.

Determinación de Aminoácidos.

Los resultados de estos análisis se muestran en la tabla No. 7, en la cual se incluye la composición en proteínas y aminoácidos de ciertos productos utilizados en la alimentación del ganado.

Comparando la composición de aminoácidos de los productos obtenidos en nuestro trabajo con los empleados en la alimentación del ganado y que aparecen en la tabla No. 7, podemos concluir que únicamente la harina de carne, la harina de pescado y la levadura de destilería contienen mayor cantidad de proteína y de aminoácidos esenciales que nuestros productos, los cuales son semejantes en su composición a la torta de algodón.

TABLA No. 7

COMPOSICION EN PROTEINAS Y AMINOACIDOS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL
PRESENTE TRABAJO Y ALGUNOS OTROS EMPLEADOS EN LA
ALIMENTACION ANIMAL.

	C% de Humedad	C% de Proteínas	ISOLEUCINA	LEUCINA	LISINA	METIONINA	TRIPTOFANO	FENILALANINA	VALINA	TREONINA	Cistina	Tirosina	Arginina	Histidina	Alanina	Ac. Aspártico	Ac. Glutámico	Glicina	Prolina	Serina
MAIZ	12.0	9.5	350	1190	254	182	67	464	461	342	147	363	398	258	716	596	1800	351	850	473
SORGO	11.0	10.1	397	1348	204	141	106	496	507	306	152	271	311	217	946	638	2141	301	821	416
CEBADA	12.0	11.0	421	784	404	196	---	603	592	389	267	365	555	248	464	666	2771	453	1282	476
TORTA DE ALGODON	8.0	27.4	1013	1877	1339	460	---	1654	1401	1060	481	951	3397	791	1261	2869	5951	1329	1086	1411
COPRA	12.2	6.6	305	524	275	150	---	354	424	265	95	209	1028	160	349	691	1464	351	291	379
LEVADURA DE DESTILERIA	---	38.8	2267	3105	3509	625	---	1882	2850	2148	348	1608	1944	969	2621	4210	4154	1863	1497	---
HARINA DE CARNE	7.4	86.0	4347	6555	6293	1435	883	3795	5589	731	2001	2401	4278	1960	---	---	---	---	---	---
HARINA DE SANGRE	---	---	110	717	705	152	79	393	553	273	53	178	321	481	---	---	---	---	---	---
HARINA DE PESCADO	10.0	75.0	3228	5424	5808	2052	---	2892	3816	3180	924	2316	4608	1932	4944	6780	10044	5352	3180	3108
PRODUCTO OBTENIDO CON <u>S. CARBAJALI</u>	*	36.47	596	1308	*	*	---	688	1168	482	---	733	548	286	1420	1593	3741	1105	*	907
PRODUCTO OBTENIDO CON <u>C. UTILIS</u>	*	41.05	964	2368	*	*	---	1082	1629	1014	---	1187	918	288	1683	2620	6425	2088	1069	1378

* No se encontró

--- No se determinó

El contenido de aminoácidos está dado en
mg/100 g. de muestra

RESUMEN

1). - En el presente trabajo se estudió la obtención de un alimento protéico para animales. La parte experimental se realizó en dos etapas: En la primera se determinaron las condiciones adecuadas para llevar a cabo la hidrólisis de los almidones contenidos en el granillo de arroz, materia prima utilizada en el proceso. Como agente catalítico de la hidrólisis se emplearon las amilasas -- producidas por el hongo Aspergillus oryzae, el cual fue previamente adaptado en un medio de cultivo conteniendo sales minerales, -- granillo y salvadillo de arroz.

Las condiciones óptimas experimentales estudiadas y encontradas en esta primera fase fueron: Cantidad de inóculo, 1 g.; - tipo de inóculo, medio de salvado enmohecido con sales de Czapeck-HCl; temperatura, 30°C; pH, 4.0; Aireación y Agitación, uso de matraces especiales y agitación a una velocidad de 160 r.p.m.; antiespumante, uso de aceite de maíz al 0.5%.

2). - La segunda etapa consistió en la biosíntesis de proteínas por las levaduras Saccharomyces carbagali y Candida utilis, - para ello se inocularon dichas levaduras en un medio de cultivo que contenía como fuente de carbono los azúcares previamente liberados por la hidrólisis de los almidones.

En esta segunda etapa las condiciones experimentales de fermentación estudiadas y encontradas fueron las siguientes: composición química del medio de cultivo, medio g. ; cantidad de inóculo, 3%; temperatura, 30°C; pH, 4.0; aireación y agitación, uso de los mismos matraces especiales y agitación a 160 r.p.m. ; antiespumante, aceite de maíz al 0.5%; duración de la fermentación, 48 horas.

3). - *Se llevó a cabo la determinación cuantitativa de proteína y de aminoácidos esenciales en el producto obtenido. Se analizaron también cualitativamente la presencia de algunas vitaminas del complejo B en los filtrados de los mostos donde se desarrollaron Aspergillus oryzae y levaduras.*

4). - *De los resultados obtenidos se encontró que: Tanto el contenido de proteína como el de aminoácidos esenciales fue mayor en Candida utilis que en Saccharomyces carbagali.*

La cantidad de proteína y aminoácidos esenciales en nuestro alimento protéico es inferior a la encontrada en las harinas de carne y de pescado y en la levadura de destilería y muy similar a la presente en la torta de algodón.

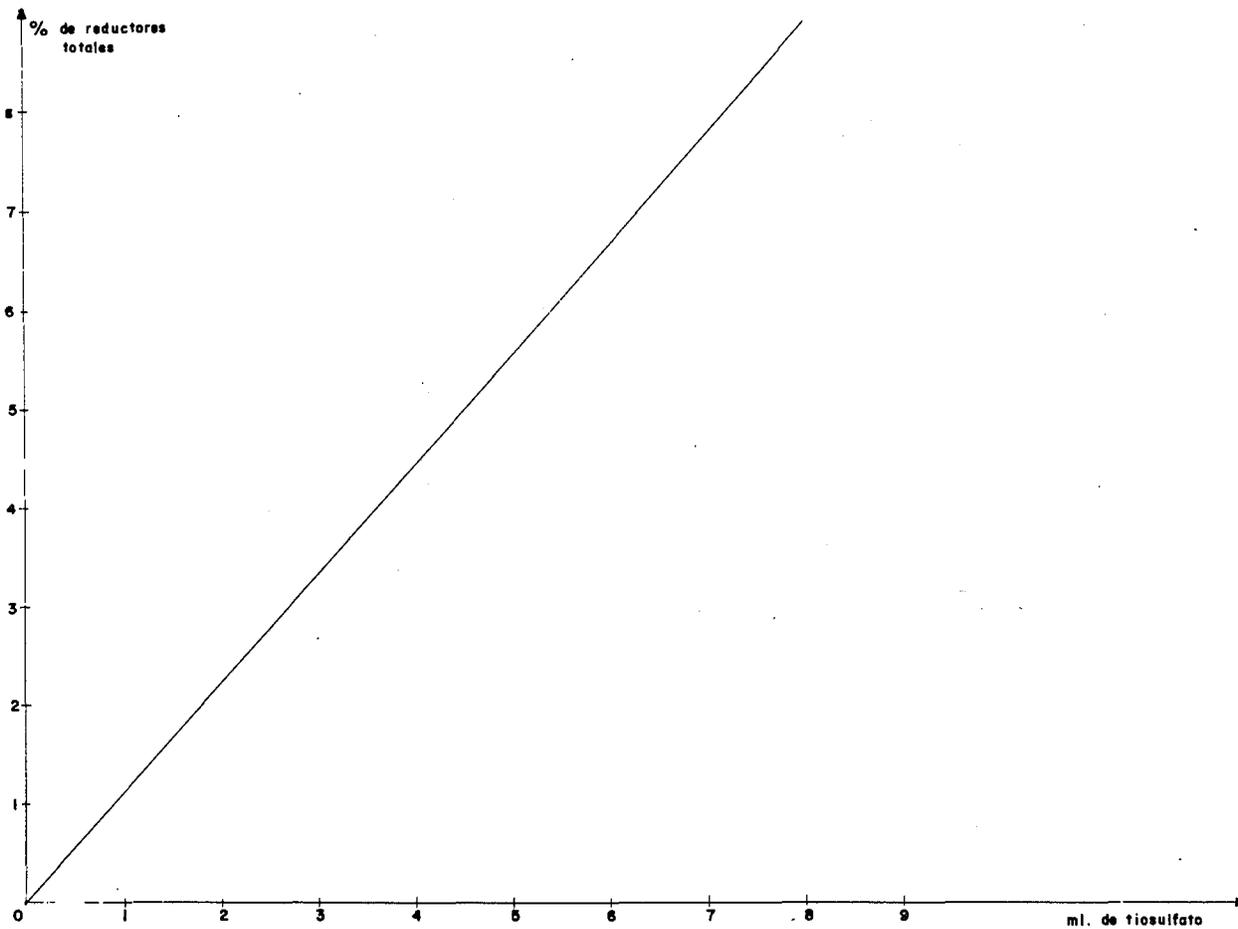
Los filtrados del mosto indicaron la presencia de las vitaminas analizadas (Riboflavina, Niacina, Cobalamina y Biotina).

BIBLIOGRAFIA

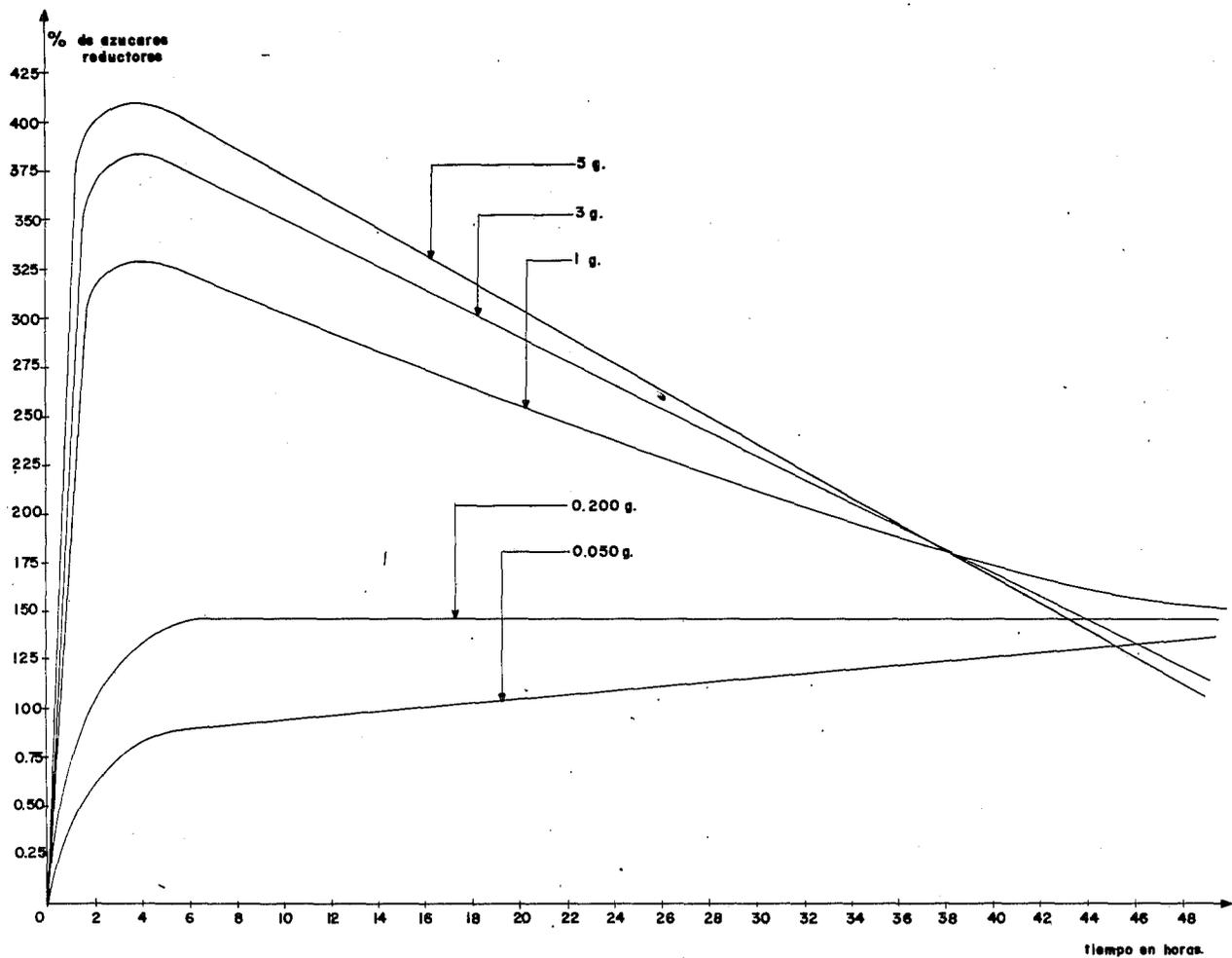
1. - *Angadette, A., El Arroz, Editorial Blume, Barcelona, España (1969).*
2. - *Anuario de Producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Vol. 25. Roma, Italia (1971).*
3. - *Arima, K., Nickerson, W.J., Pyke, M., Schanderl, H., - Schultz, A.S., Thaysen, A.C., Thorne, R.S.W., Yeasts., - Academic Press Inc., N.Y., U.S.A. (1957).*
4. - *Charlote, G., Analyse Qualitative Rapide des Cations., Ed. - Dunod., Paris, Francia (1950).*
5. - *R. V. Fenikzova and E.A. Dvadsatova., Concentrated Preparations of amylolytic enzymes from submerged cultured of *Aspergillus oryzae*. Trudy tscutral. Nauch. Issledovatel. Inst. Spirt i Likero-Vodoch. Prom 1961 No. 11, 185-9 (resumen - Chemical Abstracts. 9233f vol 56, 1952).*
6. - *Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos - sobre las proteínas. Servicio de Ciencia y Política de la Alimentación, Dirección de Nutrición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. (1970).*
7. - *Cook, A.H., The Chemistry and Biology of Yeasts., Academic Press Inc., N.Y., U.S.A. (1958).*
8. - *De Alba, J., Alimentación del Ganado en América Latina, 2a. - Edición, La Prensa Médica Mexicana., México (1971).*
9. - *Difco Manual Dehydrated Culture Media and reagent for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures., 9th Edition Difco-Laboratories, Incorporated, Detroit, Mich., U.S.A. (1971).*
10. - *R. V. Fenyksova, A.S. Tikhomirova, and A.K. Kulikova., Effect of the Composition of the Nutrient. Medium on Amylase Localization in *Aspergillus oryzae*., Prikl. Biokhim. Mikrobiol. 3 (4), - 394-400, 1967 (Russ) (resumen de Chemical Abstracts, 27688 w. Vol. 68, 1968).*

11. - Fox, S.W., Foster, J.F., *Protein Chemistry*, John Wiley and Sons, Inc., N.Y., U.S.A. (1957).
12. - S.M. Byull. *Fungi for the conversion of Malt in the Alcohol Industry.*, *Tekh-Ekon. Inform Sovet.*, Narod. Khoz Belorus S.S.R. 1958, No. 6, 43-6 (resumen de Chemical Abstracts, 18874 i. vol. 54, 1960).
13. - N.I. Danilyak and N.G. Cherenko., *Influence of the active acidity of the medium on amylolytic enzymes of Aspergillus Oryzae.*, Council Natl. Econ., Ivov). *Spirt. Prom.* 29 (7), - 11-15 (1963)., (resumen de Chemical Abstracts, 6175 C, vol. 60, 1964).
14. - Morrison, F.B., *Alimentos y alimentación del ganado, Vol-I. 21a. edición.*, Unión Tipográfica Editorial Hispanoamericana. México (1965).
15. - Neurath, H., Bailey, K., *The Proteins: Chemistry, Biological Activity, and Methods.*, Volume, I, Part A., Academic - Press Inc., N.Y., U.S.A. (1953).
16. - *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists.*, 8th Edition., Ed. Board., Washington, U.S.A. (1955).
17. - Prescott, S.C., and Dum, C.G., *Industrial Microbiology*, 3rd Edition, Mc. Graw-Hill Book Company, Inc., N.Y., U.S.A. - (1962).
18. - *Revista de Estadística. Secretaría de Industria y Comercio.*, - Dirección General de Estadística. México, marzo de 1972.
19. - Soto, S.J., *Cultivo intensivo de levaduras del pulque (tesis Profesional, E.N.C.B. I.P.N.)* México, julio de 1952.
20. - Teruzo Sawasaki. *The Substance Produced by Aspergillus Oryzae. III Isolation of Amyloglucosidases Produced by Aspergillus Oryzae*, *Inst. Phys. Chem, research, Tokyo*). *Rike gaku kenkyu sho holloku*, 36, 548-9, 1960., (resumen de Chemical Abstracts, 696 G. vol. 56, 1960).
21. - Underkofler, L.A., Guymon, J.F., Rayman M.N. and Fulmer, E.C. *A Semimicromethod for the determination of reducing sugars in fermentation media.* *Iowa St. Coll. Jour. of Sci.* 17 - (2), 251-256. Ames Iowa. U.S.A. 1942.

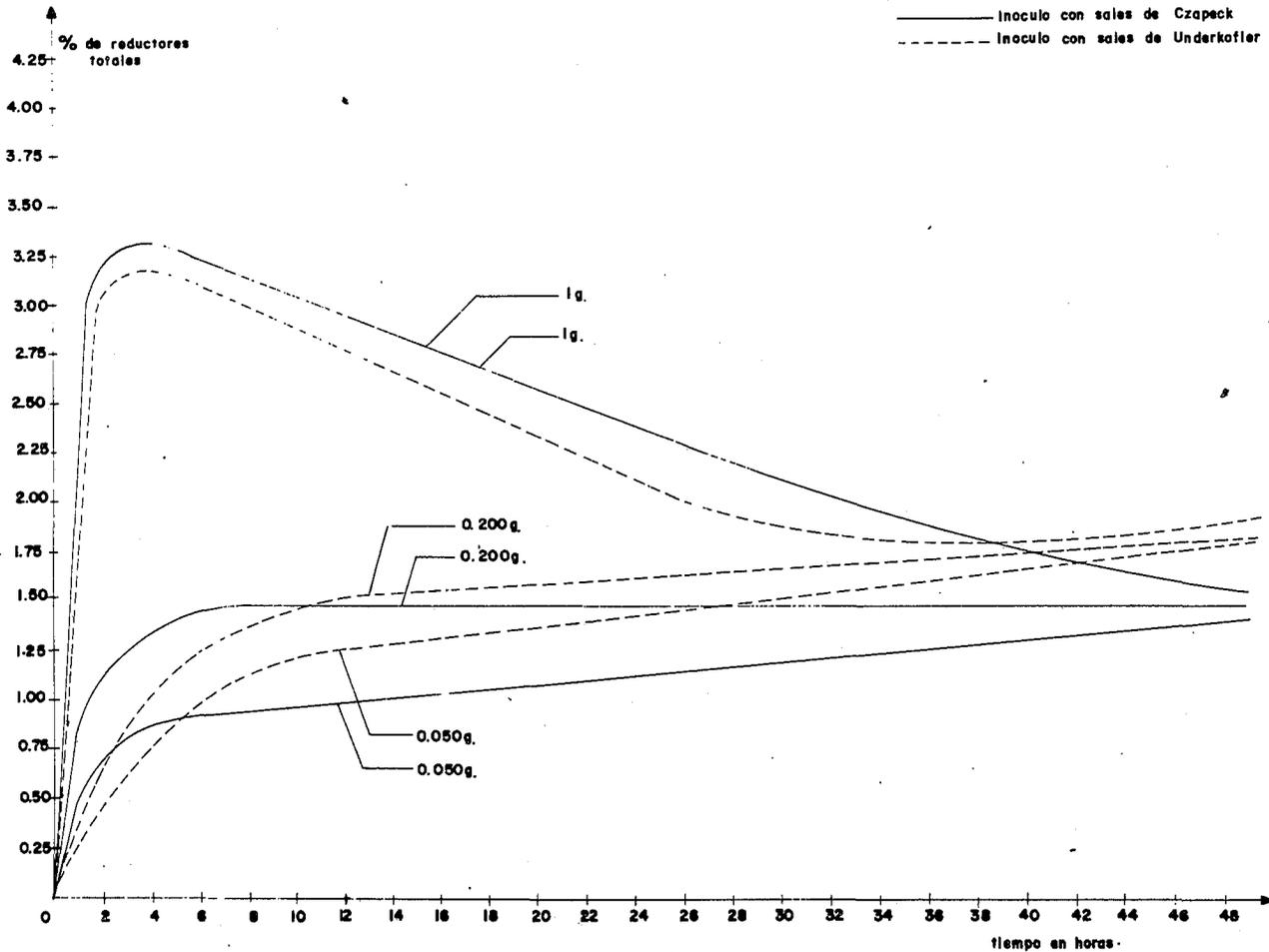
22. - Wagner, F.A., Folkers, K., *Vitamins and Coenzymes*, Interscience, N.Y., U.S.A. (1964).
23. - West, E.S., Todd, W.R., Mason, H.S., Van Brugen, J.F., - *Textbook of Biochemistry*, 4th Edition, The McMillan Co., - N.Y., U.S.A. (1966).



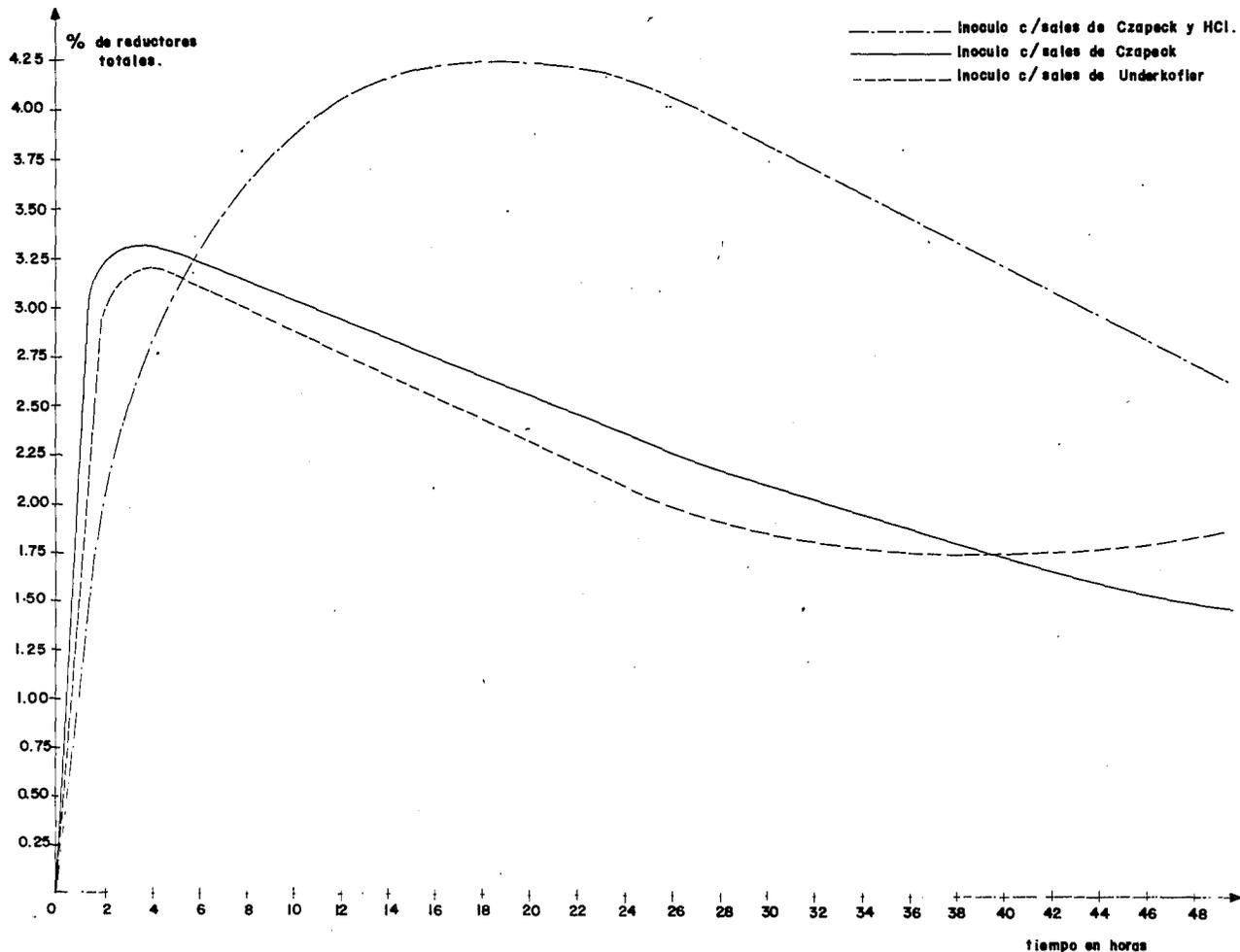
Grafica No. 1 Curva estandar para la cuantificacion de azucres reductores.



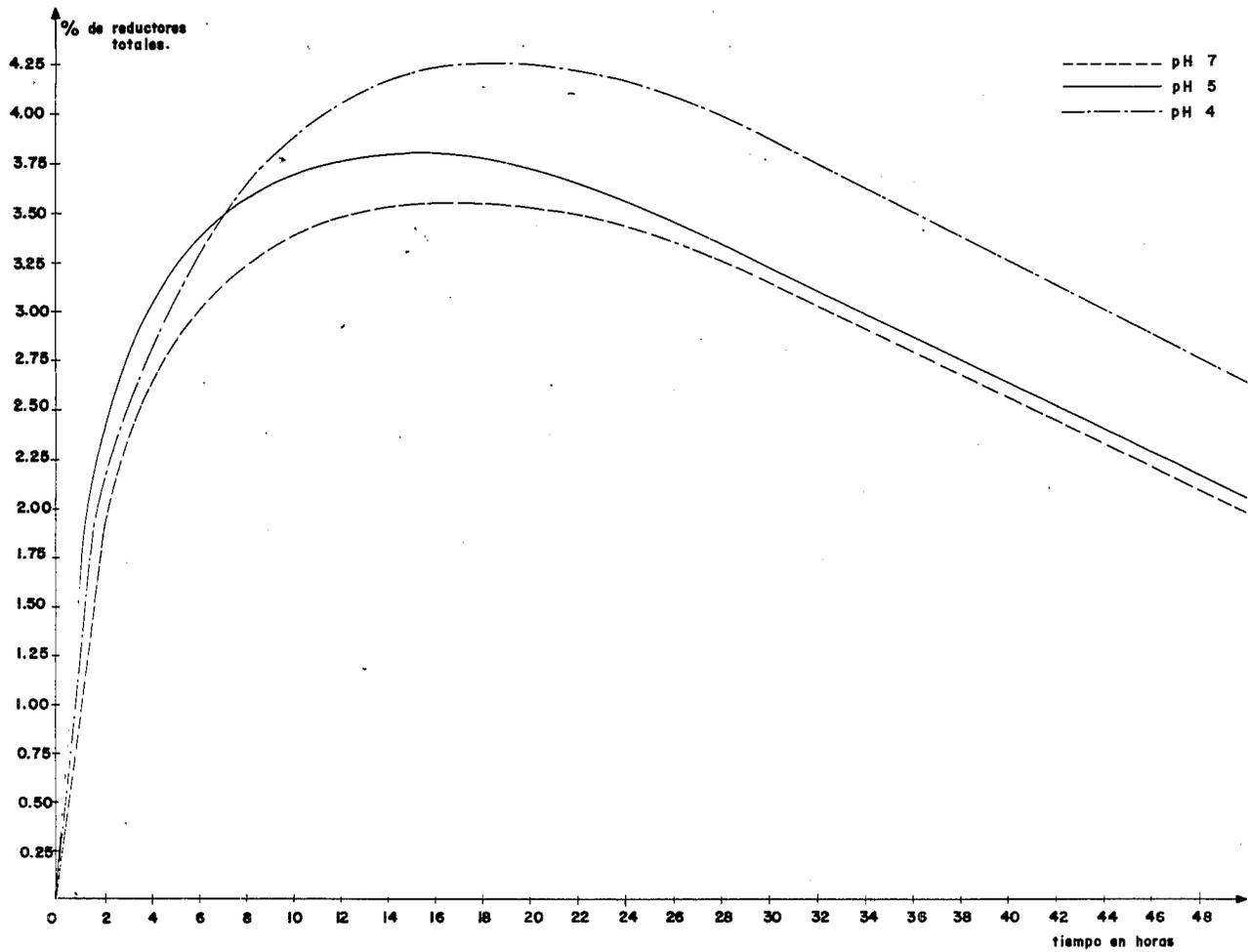
Grafica No. 2 Hidrolisis del almidon con diferentes cantidades de inoculo.



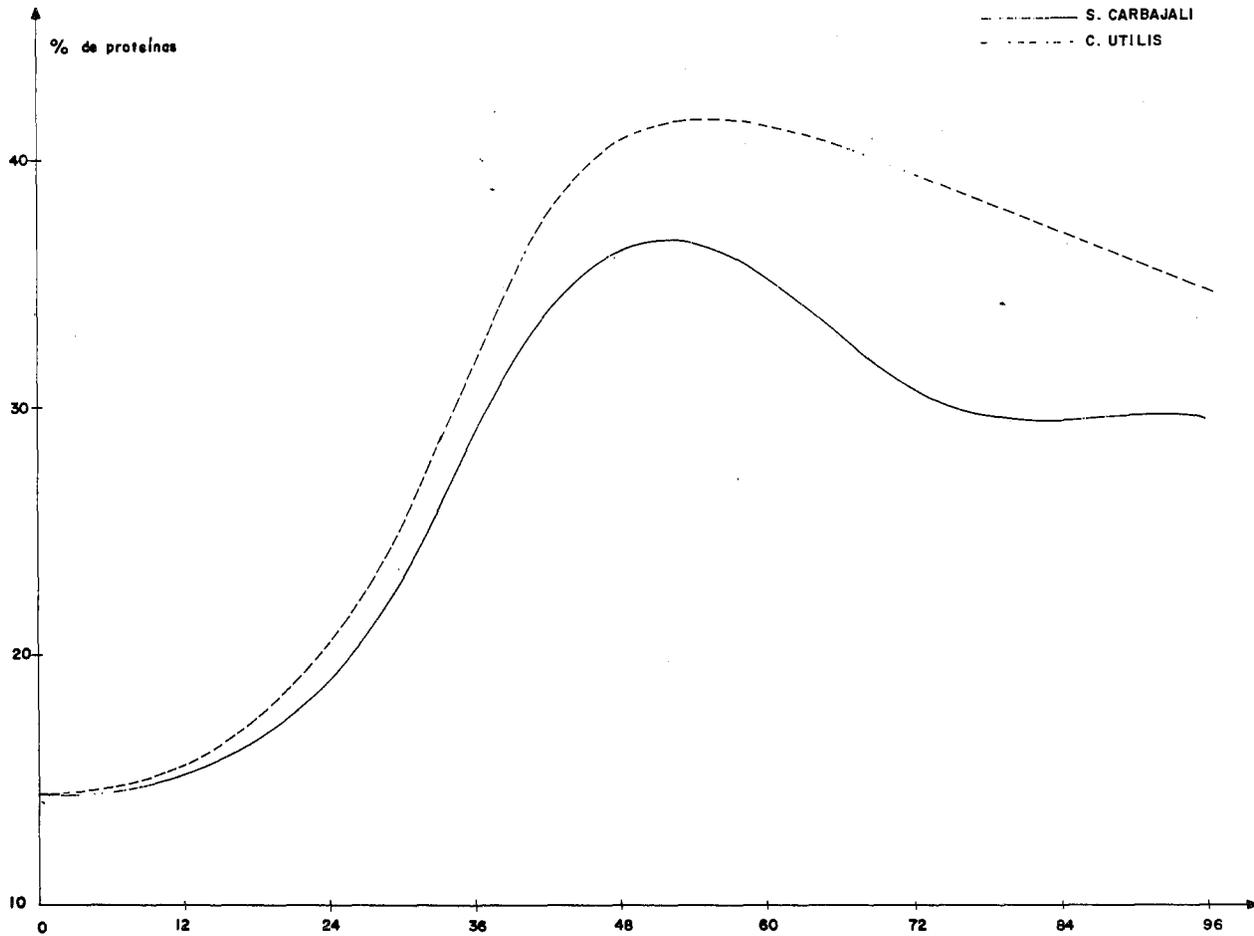
Gráfica No 3 Hidrolisis del almidon utilizando dos inoculos diferentes.



Grafica No 4 Hidrolisis del almidon con tres diferentes tipos de inoculo.



Grafica No.5 Hidrolisis del almidon con 1g. de inoculo a diferentes pH.



Grafica No.6 Contenido de proteínas en los productos obtenidos.

tiempo en horas.