

DLONE  
\$500.

800217

# FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

(11-013)

<del>11 SET 1970</del>		
------------------------	--	--

Vo Bo  


UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

LICENCIATURA EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD  
EN QUIMICA INDUSTRIAL

ESTUDIO DE LA PROTEOLISIS ORIGINADA POR  
*Aspergillus Niger* SOBRE UN PREPARADO  
ESPECIAL DE SOYA

SEMINARIO DE EVALUACION FINAL

ADAMINA GONZÁLEZ SANDOVAL

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1976

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

040.54  
6643 ea  
1976

800217

A MIS PADRES:

LIC. ANDRES GONZALEZ SAENZ

Q.F.B. ADAMINA S. DE GONZALEZ

A MI HERMANO ANDRES

A MIS MAESTROS

COMPAÑEROS Y AMIGOS

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

ESTUDIO DE LA PROTEOLISIS ORIGINADA POR ASPERGILLUS NIGER  
SOBRE UN PREPARADO ESPECIAL DE SOYA.

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1976.

REPORTE DEL SEMINARIO DE EVALUACION FINAL

PRESENTADO POR:

ADAMINA GONZALEZ SANDOVAL

I N D I C E

	<u>PAGINA</u>
INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODOS.....	3
A.- OBTENCIÓN DL INÓCULO.....	3
B.- INOCULACIÓN DEL SUBSTRATO.....	4
C.- MUESTREO.....	4
D.- DETERMINACIONES.....	5
E.- PRECAUCIONES TOMADAS PARA EVITAR - CONTAMINACIÓN.....	6
F.- CÁLCULOS.....	6
RESULTADOS.....	8
DISCUSION.....	20
CONCLUSION.....	22
RESUMEN.....	23
BIBLIOGRAFIA.....	24

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

CIENTÍFICAMENTE SE HA COMPROBADO EL HECHO DE QUE LA CALIDAD NUTRITIVA DE UN PRODUCTO ALIMENTICIO DEPENDE PRINCIPALMENTE DEL CONTENIDO PROTEÍNICÓ QUE POSEA; EN CONSECUENCIA, ES DE SUMA IMPORTANCIA CONOCER QUÉ FACTORES AFECTAN DICHA CALIDAD.

LAS INVESTIGACIONES HECHAS HAN REVELADO QUE LA PRINCIPAL CAUSA DE PÉRDIDA DEL PODER NUTRITIVO DE UN ALIMENTO ES EL ATAQUE A ÉSTE POR MICROORGANISMOS, YA QUE ÉSTOS ADEMÁS DE CONSUMIR LAS SUSTANCIAS NUTRITIVAS, EXCRETAN OTRAS COMO RESULTADO DE SU METABOLISMO QUE EN LA MAYORÍA DE LOS CASOS SON TÓXICAS, PROVOCANDO CON ELLO LA NECESIDAD DE DESECHAR EL ALIMENTO.

DENTRO DE ESTE GRUPO DE MICROORGANISMOS, LOS HONGOS SE CONSIDERAN ENTRE LOS CONTAMINANTES MÁS COMUNES, DADO QUE, COMO LA TRANSPORTACIÓN DE SUS ESPORAS ES AÉREA, LA FRECUENCIA Y EL GRADO DE ATAQUE SON DE CONSIDERACIÓN.

UN ESTUDIO HECHO RECIENTEMENTE (1) HA MOSTRADO QUE EL

-----

(1) BUENTELLO CUELLAR, ELIZABETH. "ESTUDIO DE LA ACCIÓN DE ALGUNOS HONGOS AEROBIOS COMUNES SOBRE LOS COMPONENTES DEL ALIMENTO AVÍCOLA". D.C.N.E. U. DE M. OCTUBRE, 1972.



ASPERGILLUS NIGER ES UNO DE LOS HONGOS QUE PRODUCEN MAYOR CONTAMINACIÓN; ES POR ESTA RAZÓN QUE NACIÓ LA IDEA DE REALIZAR -- LA PRESENTE INVESTIGACIÓN, EN LA CUAL SE PRETENDE OBSERVAR LA ACCIÓN DE DICHO HONGO DURANTE SEIS SEMANAS CON EL OBJETO DE -- PODER DETERMINAR SI EJERCE O NO UNA ACCIÓN PROTEOLÍTICA SOBRE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS.

CONSIDERO QUE LOS DATOS QUE ARROJE ESTA INVESTIGACIÓN -- SERÁN SÓLO UN PUNTO DE PARTIDA, YA QUE BASÁNDOSE EN ELLOS Y TOMANDO EN CUENTA TAMBIÉN LA INFLUENCIA DE LA VARIACIÓN DE PARÁMETROS TALES COMO TEMPERATURA, GRADO DE AEREACIÓN, HUMEDAD, -- ETC.; PODRÁ REALIZARSE OTROS ESTUDIOS QUE LLEVEN FINALMENTE -- A UN CONOCIMIENTO PLENO DE LA INFLUENCIA DEL ASPERGILLUS NIGER EN LAS PROTEÍNAS DE LOS ALIMENTOS. ADEMÁS, CON ELLO TAMBIÉN -- SE LOGRARÍA IDEAR MÉTODOS Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS MÁS EFECTIVOS, ASÍ COMO LA APLICACIÓN DE INHIBIDORES -- INNOCUOS MÁS ADECUADOS.

## MATERIALES Y METODOS

### A.- OBTENCION DEL INOCULO.

1.- PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO.- EL MEDIO USADO PARA LA PROPAGACION DEL MICROORGANISMO FUE SABOREAUD DEXTROSA AGAR POR SER ÉSTE UNO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO MÁS ADECUADOS PARA EL CRECIMIENTO DE HONGOS. SE COLOCÓ EN SEIS MATRACES - - EPLENMEYER DE 250 ML. Y SE ESTERILIZÓ POSTERIORMENTE EN UNA - AUTOCLAVE A 121°C Y 15 LBS. DE PRESIÓN POR ESPACIO DE 15 MIN.

2.- SIEMBRA.- SE HIZO POR ESTRÍAS A PARTIR DE UN CULTIVO PURO PROPORCIONADO POR EL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA D.C.N.E. DE LA UNIVERSIDAD DE MONTERREY Y EN UN MEDIO INCLINADO.

3.- PROPAGACION.- SE DEJÓ CRECER AL MICROORGANISMO EN CONDICIONES AMBIENTE ALREDEDOR DE SIETE DÍAS PORQUE SE CONSIDERÓ QUE AL CABO DE ESE TIEMPO TENÍA UN GRADO DE ESPORULACION ADECUADO.

4.- INOCULO.- SE OBTUVO FINALMENTE HACIENDO UNA SUSPENSION DE LAS ESPORAS EN AGUA ESTERILIZADA EN LA MISMA FORMA QUE EL MEDIO DE CULTIVO; PARA LA PRIMERA OPERACION SE INTRODUCIO - AGUA EN CADA MATRAZ Y CON UN ASA DE PLATINO SE RASPÓ LA SUPERFICIE PARA SEPARAR ASÍ LAS ESPORAS DEL MICELIO.

## B.- INOCULACION DEL SUBSTRATO.

1.- PREPARACIÓN DEL SUBSTRATO.- EL SUBSTRATO USADO - FUE UN PREPARADO ESPECIAL DE SOYA, PORQUE ADEMÁS DE TENER UN ALTO CONTENIDO PROTEÍNICÓ, SU ESTADO FÍSICO PERMITE UN ATAQUE ARTIFICIAL MÁS UNIFORME Y POR LO TANTO UN MUESTREO MÁS REPRESENTATIVO. SE UTILIZARON 30 MATRACES ERLENMEYES DE 125 ML. ESTERILIZADOS EN UN HORNO A 170°C DURANTE UNA HORA Y SE INTRODUJO EN CADA UNO DE ELLOS UNA CANTIDAD DE SUBSTRATO EQUIVALENTE A 15 GRS.

2.- INOCULACIÓN.- PARA INOCULAR LOS MATRACES SE DEPOSITARON 3 ML. DE LA SUSPENSIÓN DE ESPORAS EN CADA UNO, USANDO PARA ESE FIN, JERINGAS GRADUADAS ESTÉPILES, UNA VEZ HECHO ESTO, SE AGITÓ CADA MATRAZ PARA HOMOGENEIZAR SU CONTENIDO.

AL TRANSCURRIR 21 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN DEL SUBSTRATO FUE NECESARIO AÑADIR 5 ML. MÁS DE AGUA, PUES LAS CONDICIONES DE HUMEDAD NO ERAN SUFICIENTES PARA EL LIBRE DESARROLLO DEL MICROORGANISMO.

## C.- MUESTREO.

1.- MÉTODO.- ANTES DE SACAR LAS MUESTRAS SE HIZO UNA HOMOGENEIZACIÓN LO MÁS COMPLETA POSIBLE DEL CONTENIDO DEL MA-

TRAZ, SUSTRAYÉNDOSE POSTERIORMENTE LAS CANTIDADES REQUERIDAS.

2.- FRECUENCIA.- A PARTIR DE LA INOCULACIÓN, EL PRIMERO MUESTRO SE HIZO A LOS SIETE DÍAS PARA DAR OPORTUNIDAD DE TENER UN CRECIMIENTO DEL MICROORGANISMO APRECIABLE; DESPUÉS SE PROCEDIÓ A MUESTREAR EL PRIMERO, TERCERO Y QUINTO DÍA DE CADA SEMANA DE ESTUDIO, PUES ESTA FRECUENCIA PERMITE ANALIZAR UN NÚMERO MAYOR DE MUESTRAS ASÍ COMO TAMBIÉN PERMITE SEGUIR CON MÁS PRECISIÓN LAS MODIFICACIONES QUE VA SUFRIENDO EL SUBSTRATO.

#### D.- DETERMINACIONES.

1.- HUMEDAD.- PARA HACER ESTAS DETERMINACIONES, EN FORMA EXACTA, SE PESÓ APROXIMADAMENTE UN GRAMO DE MUESTRA; SE INTRODUJO EN UN CRISOL DE PORCELANA PREVIAMENTE TARADO Y SE LLEVÓ A LA ESTUFA POR ESPACIO DE UNA HORA A 90°C.

2.- PROTEÍNAS.- SE TRABAJÓ CON DOS SERIES, CADA UNA DE LAS CUALES ESTUVO CONSTITUIDA POR CINCO MUESTRAS DE UN GRAMO RESPECTIVAMENTE; SE HIZO ASÍ PORQUE ESTA CANTIDAD DE MUESTRAS ES LA MÍNIMA PARA OBTENER UN PROMEDIO REPRESENTATIVO MATEMÁTICAMENTE HABLANDO. SE DETERMINARON POR EL MÉTODO DE KJELDAHL Y EN UN APARATO LAB-CON-CO; EL DESTILADO SE RECIBIÓ EN MATRACES ERLLENMEYER CONTENIENDO ÁCIDO SULFÚRICO 0.5 N Y SE TITULÓ

POSTERIORMENTE CON HIDRÓXIDO DE SODIO 0.5 N.

3.- NITRATOS.- ESTA DETERMINACIÓN FUE CUALITATIVA Y --  
PARA EFECTUARLA SE HIZO UNA INFUSIÓN DE LA MUESTRA EN AGUA, -  
SE FILTRÓ Y EL FILTRADO SE HIZO REACCIONAR CON DIFENILAMINA -  
EN MEDIO ÁCIDO, USANDO PARA ELLO ÁCIDO SULFÚRICO AL 98%.

E.- PRECAUCIONES TOMADAS PARA EVITAR CONTAMINACION.

DURANTE LAS ETAPAS QUE IMPLICARON MANIPULACIÓN DEL MI-  
CROORGANISMO, SE USARON MASCARILLAS PARA EVITAR UNA POSIBLE -  
INFECCIÓN; LAS MASCARILLAS DESECHADAS SE INCINERARON. EL -  
MATERIAL USADO SE DESINFECTÓ CON SULFATO DE COBRE Y POSTERIOR  
MENTE SE LAVÓ CON DETERGENTE.

F.- CALCULOS.

1.- HUMEDAD.- EL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS MUESTRAS  
SE OBTUVO HACIENDO LA RELACIÓN A PARTIR DE LA DIFERENCIA EN -  
PESO DE LA MUESTRA DESPUÉS DE SACARLA DE LA ESTUFA.

2.- PROTEÍNAS.- LOS PESOS DE LAS MUESTRAS SE REFIRIE  
RON A MUESTRA SECA PARA ELIMINAR UNA POSIBILIDAD DE ERROR; PA  
RA CALCULAR EL PORCENTAJE SE USÓ COMO FACTOR 0.25 PARA TRANS-

FORMAR EL NITRÓGENO A PROTEÍNAS.

R E S U L T A D O S

SERIE I

ANALISIS INICIAL DEL SUBSTRATO

HUMEDAD: 4.62%

PROTEINAS: 31.24%

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
1	7	30.53	13.74
		30.94	
		29.97	
		29.93	
		29.98	
2	9	26.06	15.65
		26.55	
		26.03	
		26.04	
		24.49	
3	11	28.14	16.91
		28.15	
		28.14	
		28.15	
		28.15	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
4	14	27.14	15.96
		27.16	
		27.16	
		26.64	
		26.67	
5	16	26.42	15.42
		25.95	
		26.46	
		25.97	
		26.47	
6	21	29.89	22.12
		31.48	
		30.95	
		31.51	
		31.52	
7	23	26.86	37.79
		29.09	
		29.10	
		27.63	
		28.97	



MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A - MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
8	25	31.05	50.40
		31.67	
		31.74	
		34.32	
		35.06	
9	28	31.59	46.24
		30.79	
		30.33	
		31.17	
		30.24	
10	30	37.26	46.72
		34.88	
		36.48	
		34.69	
		34.64	
11	32	32.33	44.25
		32.81	
		30.86	
		31.69	
		30.94	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A - MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
12	35	29.76	46.24
		31.02	
		31.61	
		30.97	
		31.61	
13	37	27.69	45.07
		27.42	
		27.56	
		27.85	
		27.86	
14	39	35.66	47.97
		35.19	
		36.56	
		37.09	
		35.36	
15	42	33.59	46.41
		32.45	
		33.88	
		33.51	
		33.53	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
16	44	34.56	47.42
		36.24	
		36.60	
		36.60	
		34.36	
17	46	36.50	49.44
		36.04	
		36.08	
		35.63	
		36.36	

S E R I E I I

ANALISIS INICIAL DEL SUBSTRATO

HUMEDAD: 4.62%

PROTEÍNAS: 31.24%

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
1	7	30.03	14.05
		29.54	
		29.56	
		29.10	
		30.06	
2	9	24.86	16.85
		24.88	
		24.87	
		23.30	
		23.30	
3	11	23.89	18.90
		23.36	
		23.36	
		23.38	
		24.41	
4	14	23.61	16.13
		23.62	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
		24.64	
		25.68	
		23.60	
5	16	17.70	14.89
		20.24	
		20.23	
		17.22	
		19.23	
6	21	30.18	18.74
		20.68	
		20.65	
		20.69	
		19.60	
7	23	29.22	36.99
		28.07	
		26.60	
		26.68	
		29.25	
8	25	24.08	28.13
		24.70	
		24.38	
		24.18	
		24.46	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
9	28	29.24	46.24
		27.84	
		27.01	
		28.04	
		27.64	
10	30	27.10	32.62
		26.37	
		28.75	
		26.39	
		28.77	
11	32	25.53	24.39
		22.55	
		24.38	
		22.75	
		22.44	
12	35	23.08	41.02
		20.69	
		23.36	
		20.71	
		23.26	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
13	37	25.53	45.67
		23.21	
		25.13	
		25.24	
		24.64	
14	39	37.31	36.82
		35.63	
		35.31	
		37.56	
		35.33	
15	42	20.36	41.96
		19.41	
		20.63	
		18.28	
		18.29	
16	41	28.25	55.26
		27.00	
		26.59	
		28.29	
		26.45	

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION	% DE PROTEINAS (REFERIDO A MUESTRA SECA)	% DE HUMEDAD
17	46	21.01	39.56
		20.80	
		19.34	
		19.11	
		20.59	



PORCENTAJES DE PROTEINAS

(REFERIDOS A MUESTRA  
SECA)

ANALISIS INICIAL DEL SUBSTRATO: 31.24

MATRAZ	TIEMPO DE INCUBACION (DÍAS)	SERIE I	SERIE II
1	7	30.27	29.66
2	9	25.83	24.24
3	11	28.15	23.68
4	14	26.95	24.23
5	16	26.26	18.92
6	21	31.07	22.36
7	23	28.33	27.96
8	25	32.77	24.36
9	28	30.82	27.95
10	30	35.59	27.48
11	32	31.73	23.53
12	35	30.99	22.22
13	37	27.68	24.75
14	39	35.97	36.23
15	42	33.39	19.39
16	44	35.67	27.32
17	46	36.12	20.17

## DISCUSION

A).- LAS VARIACIONES EN LOS PORCENTAJES DE PROTEÍNAS - QUE EXISTEN ENTRE LAS MUESTRAS EXTRAÍDAS DE UN MISMO MATRAZ - SON MUY PEQUEÑAS Y PUEDEN DEBERSE A QUE LAS MUESTRAS USADAS - NO ERAN TOTALMENTE HOMOGÉNEAS; ESTO NO SE PUDO LOGRAR PORQUE DATOS LOS RIESGOS DE CONTAMINACIÓN, NO FUE POSIBLE UTILIZAR - LOS MÉTODOS COMÚNMENTE USADOS EN EL LABORATORIO PARA TRITURACIÓN DE MUESTRAS.

B).- LAS VARIACIONES EN LOS PORCENTAJES DE PROTEÍNAS - OBTENIDOS A LO LARGO DEL PERÍODO DE ESTUDIO NO SON GRANDES Y PUEDEN DEBERSE A QUE, COMO SE TRABAJÓ CON UN PROCESO BIOLÓGICO, ES DE ESPERARSE QUE SEA IRREGULAR; ADEMÁS, HAY QUE CONSIDERAR EL HECHO DE QUE LAS MUESTRAS USADAS NO FUERON TOTALMENTE HOMOGÉNEAS.

C).- PARA UN TIEMPO DE INCUBACIÓN DADO, SE OBSERVA QUE HAY DISCREPANCIA ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN AMBAS SERIES; ESTO PUEDE DEBERSE A LAS CAUSAS MENCIONADAS EN LOS PUNTOS ANTERIORES Y TAMBIÉN A QUE, COMO EL ASPERGILLUS NIGER CAUSA UNA "LIPÓLISIS CASI TOTAL" (1) EN EL PREPARADO DE SOYA - -

---

(1) SARO BOARDMAN MILAGROS. "ESTUDIO DE LA LIPÓLISIS ORIGINADA POR ASPERGILLOS NIGER SOBRE UN PREPARADO ESPECIAL DE SOYA". D.C.N.E., U. DE M. DICIEMBRE, 1976. PÁG. 17

USADO, ESTO ÚLTIMO TRAE COMO CONSECUENCIA QUE AL REPORTAR -- LAS CANTIDADES DE PROTEÍNAS OBTENIDAS EN FORMA DE PORCENTAJE, LA DISMINUCIÓN DE GRASA ANTES MENCIONADA HACE QUE LAS PROPORCIONES DE LOS DEMÁS COMPONENTES, INCLUYENDO LAS PROTEÍNAS, SE VEAN INCREMENTADAS NUMÉRICAMENTE AL REFERIR LA RELACIÓN A PORCENTAJE.

D).- DURANTE EL PERÍODO DE INCUBACIÓN, EL CONTENIDO DE NINGUNO DE LOS MATRACES DESPIDIÓ OLORES AMÍNICOS O AMONIACALES; ESTO, AUNADO AL HECHO DE QUE SE OBTUVO UNA REACCIÓN POSITIVA EN LA IDENTIFICACIÓN DE NITRATOS, NOS INDICA QUE HUBO UN PEQUEÑO PROCESO DE OXIDACIÓN DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS HASTA TRANSFORMARLOS EN NITRATOS PARA PODER UTILIZARLOS DESPUÉS.

E).- DADO QUE LA ÚNICA FUENTE DE NITRÓGENO ACCESIBLE -- ERAN LAS PROTEÍNAS CONTENIDAS EN EL SUBSTRATO, ES EVIDENTE -- QUE EL HONGO LAS UTILIZÓ PARA SU CRECIMIENTO.

F).- NO ES POSIBLE HACER UN ANÁLISIS MATEMÁTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS PUES EL PROCESO ESTUDIADO ES MUY IRREGULAR.

C O N C L U S I O N

APARENTEMENTE NO HAY PROTEOLISIS DEL PREPARADO ESPECIAL DE SOYA EN LAS CONDICIONES EN QUE SE TRABAJÓ.

-----

RESUMEN

SE HIZO UN ESTUDIO CON EL FIN DE AVERIGUAR SI EL --  
ASPERGILLUS NIGER ORIGINA PROTEÓLISIS EN UN PREPARADO ESPE  
CIAL DE SOYA.

-----

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- BUENTELLO CUELLAR, ELIZABETH. "ESTUDIO DE LA ACCIÓN DE ALGUNOS HONGOS AEROBIOS COMUNES SOBRE LOS COMPONENTES - DEL ALIMENTO AVÍCOLA" D.C.N.E. U. DE M. OCTUBRE, 1972.
- 2.- SARO BOARDMAN, MILAGROS. "ESTUDIO DE LA LIPÓLISIS ORIGINADA POR ASPERGILLOS NIGER SOBRE UN PREPARADO ESPECIAL - DE SOYA". D.C.N.E., U. DE M. DICIEMBRE, 1976.
- 3.- U. B. TURNER. "FUNGAI METABOLITES". ED. ACADEMIC PRESS, INC. LONDON, GREAT BRITAIN, 1971.
- 5.- WOLF AND WOLF. "THE FUNGI" ED. JOHN WILEY AND SONS, INC. U. S. A. FEBRUARY, 1949. VOL. II.

-----

800217