



Revista CENIC. Ciencias Biológicas

ISSN: 0253-5688

editorial.cenic@cnic.edu.cu

Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Cuba

Viera Oramas, Diana Rosa; Grillo Díaz, Mileydis; Rodríguez Martínez, Claudio; Zhurbenko, Raisa
La Placenta Humana Nuevo Sustrato Proteico Empleado para la Obtención de Bases Nutritivas.

Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 36, 2005

Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220525106>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

La Placenta Humana Nuevo Sustrato Proteico Empleado para la Obtención de Bases Nutritivas.

Diana Rosa Viera Oramas, Mileydis Grillo Díaz, Claudio Rodríguez Martínez, Raisa Zhurbenko

Centro Nacional de Biopreparados BioCen, Carretera a Beltrán Km 1 1/5 Bejucal, La Habana, Cuba, Departamento de Investigaciones de Medios de Cultivo, E-mail dianabiocen.cu, Teléfono 682441, Fax 8831144

RESUMEN: El hidrolizado de placenta humana es una nueva base nutritiva con un elevado contenido de nutrientes y constituyen un paso importante en el desarrollo de una metodología para su obtención a partir de residuos de placenta. Además de ser un nuevo producto en la gama de BIOcen y brindar la posibilidad de utilizar en sustitución de bases nutritivas importadas. Con el objetivo de desarrollar y evaluar la funcionalidad de dicha base se realizó un diseño experimental completamente aleatorio, se estudió la influencia de parámetros fundamentales en el proceso de obtención tales como: cantidad de enzima, tiempo de hidrólisis y relación sustrato agua. Definiendo que 0,4 g de papaína por Kg de sustrato, durante 4 hora de hidrólisis y en una relación 1: 5 sustrato agua, además de un tratamiento térmico durante 30 min fueron los elementos críticos prefijados en la tecnología de obtención del hidrolizado. Se obtuvo un producto con elevada calidad cuyos valores óptimos de los índices fisicoquímicos fueron: nitrógeno amínico 2,38 % nitrógeno total 13,62 % y un rendimiento 14,56 % . Al realizar la evaluación microbiológica de la peptona a nivel piloto se obtuvieron resultados satisfactorios y correspondiente a los descrito en la documentación. Esta nueva base nutritiva es una prueba de la posibilidad de utilizar los residuos de placenta humana en calidad de sustrato proteico con una calidad adecuada comparable con los productos de similar propósito existentes en el mercado internacional.

ABSTRACT: The human placenta hidrolizate is a new nutrient base with a high nutrient content and constitute an important step in the development of a methodology for its obtaining from placenta residuals. Besides it is a new product in the range of BIOcen and to offer the possibility to use in substitution of another nutrient bases. With the objective of to develop and to evaluate the functionality of this base was carried out a totally aleatory experimental design, the influence of fundamental parameters was studied in the such obtaining process as: enzyme of quantity, hydrolysis time and substrate-dilutes relationship. Defining that 0,4 g of papaína for substrate Kg, during 4 hour of hydrolysis and in a substrate-dilutes 1: 5 relationship, besides a thermal treatment during 30 min were the critical elements in the obtaining technology of hidrolizate. A product was obtained with high quality whose good values of the typical index were: amínico nitrogen 2,38 %, total nitrogen 13,62 %, and a yield 14,56 %. When carrying out the microbiological evaluation of the pilot peptone to level were obtained satisfactory results and corresponding to those described in the documentation. This new nutrient base is a test of the possibility of using the residuals of human placenta in quality of proteic substrate with an appropriate quality comparable with the existent products of similar purpose in the international market.

Palabras clave: Hidrolizado de placenta, Peptonas y microbiología

Words key: placenta hidrolizate, peptone and microbiology

INTRODUCCIÓN

La placenta es un órgano rico en múltiples sustancias con diferentes actividades biológicas, formada a partir del cuarto mes de gestación humana, ella es capaz de almacenar grandes cantidades de proteínas, calcio y hierro que luego contribuirán al crecimiento del feto.^(1,2)

Por su alto valor nutritivo se han creado verdaderas industrias que comercializan sus derivados como medicamentos, cosméticos y alimentos de régimen. Los residuos son fuentes proteicas con una elevada distribución aminoacídica completa y la relación proteína/ sólidos totales indica que pueden ser utilizado en la producción de bases nutritivas.^(3, 4)

Desde la década de los 80 se han utilizados hidrolizados que utilizan la placenta como sustrato destinado a la identificación y cultivo de bacterias patógenas para el hombre.^(5, 6) En Cuba no existen antecedentes de desarrollo del hidrolizado de placenta como sustrato proteico para el crecimiento microbiano. A partir del año

99, el Centro Nacional de Biopreparados comienza a realizar los estudios preliminares con el objetivo de la obtención de una nueva base nutritiva de alto valor proteico a partir de residuos de placenta humana, un nuevo producto que respondiera a la necesidad de ser empleado como componente en productos de diagnóstico clínico. Además de contar con una base de alta calidad con una composición novedosa y rica en nutrientes. Por esta razón el objetivo del presente trabajo consistió en la obtención de una base nutritiva de alto valor proteico a partir de los residuos de placenta humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustrato proteico: Residuos de placenta humana con un elevado contenido de alcohol, procedente del Centro de Histoterapia Placentaria y como agente hidrolítico se utilizó la enzima papaína de 800 TU de la firma Byocatalysts.

Material de referencia: La evaluación de la funcionalidad de la peptona de placenta se realizó comparando con productos similares tales como la Peptona Bacteriológica de la Firma Oxoid Lote: 18758212 y Peptona Bacteriológica Z Optimizada de la Firma BIOCEN Lote: 7016. Se formularon medios de cultivo con diferentes propósitos entre ellos Agar S.S., Agar Dextrosa de Sabouraud, Caldo Nutriente y Caldo Púrpura de MacConkey. Para comprobar la capacidad de promover el crecimiento de estos productos se utilizaron medios similares como control de la firma reconocidas internacionalmente.

Material Biológico: Se emplearon cepas de microorganismos certificados por la American Type Culture Collection (ATCC) para la evaluación de los productos de ellos *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC 19430, *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Saccharomyces uvarum* ATCC 9080, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Diseño Experimental: Se realizó un diseño aleatorizado 2³ estudiando la influencia de tres parámetros en el proceso de obtención del hidrolizado: cantidad de papaína, tiempo de hidrólisis y relación sustrato-agua. Como variable respuesta se estudió nitrógeno amínico (Nam), nitrógeno total (Nt) y rendimiento (R). Con la mejor variante del diseño se procedió a realizar un lote piloto del hidrolizado.

Caracterización organoléptica y fisicoquímica del hidrolizado de placenta: El conjunto de las características organolépticas del polvo y de la solución de la base nutritiva al 2 % después de esterilizar a 121 °C durante 15 min fue determinado de forma visual y sensorial. Entre los análisis fisicoquímico determinados como indicadores de calidad tenemos el contenido de nitrógeno amínico realizado por el método de valoración potenciométrica en presencia de formaldehído. ^(7 y 8) El contenido de nitrógeno total con ayuda del Kjeltec System de la firma Tecator. ^(7 y 8) El pH papel fundamental de los medios de cultivo se determinó empleando el método potenciométrico.

Funcionalidad biológica: Se evaluó la presencia de carbohidratos fermentables, producción de indol, la detección de gas sulfhídrico y producción de acetilmetilcarbinol recomendados por la USP XXIII. ⁽⁹⁾ Las pruebas de promoción del crecimiento microbiano se realizaron para observar la capacidad del producto de promover o inhibir el crecimiento de los microorganismos en los medios formulado, se utilizaron los métodos de siembra: inundación de la superficie e inoculación por estrías. ^(10,11,12)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A las variantes obtenidas del diseño experimental se les realizó un análisis fisicoquímico y los valores obtenidos con su correspondiente tratamiento estadístico (Ver Tabla 1) mostraron la influencia de las variables estudiadas (cantidad de papaína, tiempo de hidrólisis y relación sustrato-agua) sobre los principales indicadores de calidad del producto.

Tabla 1. Resultados del diseño experimental.

Variantes	Nam, (%)	Nt, (%)	R, (%)
1	2,09 ± 0,092	12,90 ± 0,149	13,97
2	2,35 ± 0,000	14,02 ± 0,064	14,56
3	2,05 ± 0,000	13,04 ± 0,022	13,02
4	2,35 ± 0,050	13,37 ± 0,036	16,13
5	1,88 ± 0,028	13,98 ± 0,262	11,46
6	2,23 ± 0,042	13,78 ± 0,064	8,140
7	2,33 ± 0,036	14,09 ± 0,198	11,54
8	2,00 ± 0,000	13,12 ± 0,050	8,580

Los resultados obtenidos arrojaron que las variantes 2 y 4 poseen valores de nitrógeno amínico y rendimiento superiores con respecto a las demás, influyendo sobre estos dos indicadores de calidad las tres variables estudiadas en el diseño, mientras que la cantidad de papaína y la relación sustrato-agua hace que las variantes 2 y 7 tenga el mayor contenido de nitrógeno total. Por consiguiente el tratamiento estadístico realizado a todas estas variantes demuestra que la mayor influencia sobre ella la ejerce la cantidad de papaína añadida como agente hidrolítico en la obtención de esta nueva base nutritiva. Teniendo en cuenta este análisis se tomó como mejor variante la 2 ya que tiene 0,4 g de papaína por Kg de sustrato, 4 hora de hidrólisis y una relación sustrato-agua 1: 5 a pesar de los buenos resultados en la evaluación fisicoquímica, la base presentó una ligera turbiedad debida a la presencia de restos del alcohol en el residuo. Por lo que se elaboraron nuevas variantes con vista a mejorar la calidad del producto a las cuales se le realizó un tratamiento térmico al sustrato antes del proceso hidrolítico, la primera hirviendo durante 30 min y la segunda durante 1 hora.

La variante con tratamiento térmico durante 30 min (9PL-P1) se seleccionó para definir la tecnología de obtención de la nueva base nutritiva, ya que se obtuvieron los mejores resultados de Nam (2,57); Nt (13,63) y R (7) con respecto a la variante realizada con tratamiento térmico durante una hora donde los valores en los indicadores de calidad fueron más bajos y existieron diferencias significativas entre ellos con una $p < 0,05$, como consecuencia de la desnaturalización de la proteína por el excesivo calentamiento. En cuanto a la ligera turbiedad presentada en las características organolépticas fueron eliminadas con este tratamiento térmico con la evaporación del alcohol, observándose la brillantez y transparencia que debe caracterizar a este producto en una solución al 2 %.

A partir de la tecnología definida se procedió a la obtención del producto a escala piloto (Lote 9-PL-P-3) y el mismo se evaluó en comparación con otros productos de referencia con vista a determinar su factibilidad de empleo en calidad de peptona bacteriológica en los medios de cultivo.

Las características organolépticas como color del polvo beige, la apariencia del producto de ser fino, deshidratado, sin presencia de partículas extrañas ni grumos, le brinda la transparencia y brillantez a la solución al 2 % evaluada del hidrolizado de placenta, demostrando su total coincidencia con las obtenidas en las peptonas bacteriológicas de la firma Oxoid y BIOCEN empleadas como controles. Por lo que los indicadores evaluados se encuentran dentro de los requisitos de calidad establecidos para este tipo de producto.

La comparación realizada a los resultados de las pruebas fisicoquímicas con los requisitos de calidad establecidos para los hidrolizados enzimáticos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de las pruebas fisicoquímicas de la variante piloto 9-PL-P-3.

Índice	X promedio ± S	Requisitos
Nitrógeno amínico (%)	2,38 ± 0,49	≥ 2,0
Nitrógeno total (%)	13,62 ± 0,12	≥ 11,0
pH de la solución al 2 % después de esterilizar a 121 °C por 15 min	7,097	6,5 -7,5

Los resultados muestran que el hidrolizado de placenta cumple con las especificaciones de calidad y reafirmando que el esquema tecnológico seguido es adecuado para la obtención de dicho producto.

Los resultados de la evaluación microbiológica refleja cualitativamente que las reacciones bioquímicas reveladas en el hidrolizado de placenta son similares a los obtenidos en la peptona bacteriológica de la firma Oxoid. El mismo no posee carbohidratos fermentables lo que permite ampliar la aplicación del mismo en medios de cultivo destinado a los estudios de fermentación. Se demostró que la base posee aminoácidos esenciales tales como cistina y cisteína al ser positiva la producción de sulfuro de hidrógeno e indol. Finalmente se confirmó que el producto cuenta con un alto grado de hidrólisis al observarse una respuesta positiva a la reacción de producción de acetilmetilcarbinol.

La prueba de promoción de crecimiento del hidrolizado de placenta se determinó al formular el medio de cultivo Agar S.S. destinado para el aislamiento selectivo de *Salmonella* y *Shigella*, los resultados muestran la posibilidad de utilizar este producto en calidad de peptona bacteriológica al observar resultados similares con los obtenidos en el medio control empleado.

Los resultados obtenidos en la inoculación microbiana por diluciones en el medio Agar Dextrosa de Sabouraud destinado al cultivo de hongos y levaduras, permitieron demostrar que el producto puede ser utilizado como componente de este medio pues se obtuvieron respuestas positivas de crecimiento a altas diluciones 10^{-5} al igual que el producto de referencia (Ver **fig. 1**).

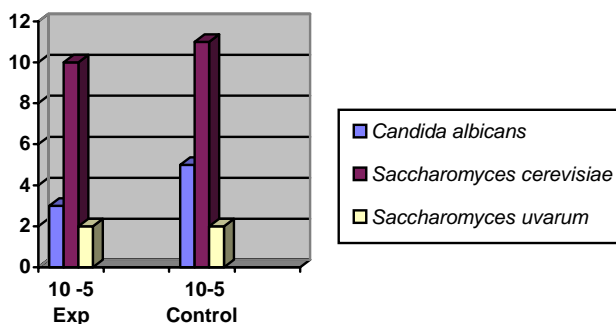


Figura 1. Evaluación del Hidrolizado de placenta lote piloto en el medio Agar Dextrosa de Sabouraud.

El Caldo Nutriente, es un medio de uso general que permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos poco exigentes como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Staphylococcus epidermidis*, al sustituir la peptona bacteriológica por el hidrolizado de placenta se obtuvo una elevada sensibilidad del medio frente a las bajas concentraciones de microorganismos de ensayos y se demostró la factibilidad de utilizar dicha base como componente de este producto.

La reacción de fermentación de la lactosa con la producción de gas y el cambio de color en el medio de violeta a amarillo para *E. coli* se observó en el medio Caldo Púrpura de MacConkey, destinado al crecimiento de

microorganismos coliformes en agua y leche, cuando empleamos el hidrolizado de placenta como base nutritiva, siendo igual esta respuesta al medio de referencia, en el caso de *Salmomellala* respuesta fue la esperada, no hubo cambio de color en el medio, ni producción de gas y si un buen crecimiento. En el *Staphylococcus aureus* que fue empleado como control negativo no se observó cambio ninguno en el medio.

Tabla 3. Resultados de la siembra de los microorganismos en el medio Caldo Púrpura de MacConkey

Microorganismo	Variantes	Color del medio	Dilución 10 ⁻⁵	Gas	Dilución 10 ⁻⁶	Gas
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Piloto	Amarillo Claro	+	+	+	+
	BIOCEN	Amarillo	+	+	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Piloto	Violeta	+	-	+	-
	BIOCEN	Violeta	+	-	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Piloto	Violeta	-	-	-	-
	BIOCEN	Violeta	-	-	-	-

Leyenda: (+) - respuesta positiva

(-) - respuesta negativa

CONCLUSIONES

Con la realización de este trabajo se obtuvo un hidrolizado proteico de los residuos de la placenta humana con adecuados índices fisicoquímicos: Nitrógeno amínico 2, 38 %, Nitrógeno total 13,62 % y pH 7,1, comparables con los productos de similar propósito existentes en el mercado internacional. Se demostró la posibilidad de utilizar los residuos de placenta humana en calidad de sustrato proteico para la obtención de una nueva base nutritiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Ewijk, W.H. Placenta or lost organ. Univ of Amsterdam. Holland. 1996.
2. Estudio Bibliográfico sobre la Histoterapia Placentaria.
3. Miyares, C.M. y M.Taboas. **Rev. Cub. Farm.**, **10**, 1-67, 1976.
4. Márquez, L.R. Fraccionamiento proteico en sangre de placenta humana descongelada. Trabajo de diploma. Centro de Histoterapia Placentaria. 1995.
5. CECMED. Regulación. N 2-95. Requisitos para la recolección, conservación y transportación de las placentas humanas. 1995.
6. Coto, G. Bipolar. AE-923. Alimento Enteral soluble obtenido de extractos placentarios humanos. IX Forum de Ciencia y Técnica. Centro de Histoterapia Placentaria. 1994.
7. Manual de Técnicas de Laboratorio. Bases Nutritivas y Medios de Cultivo. Editorial Ciencias Médicas. Aprobado para publicación, 1991.
8. US Pharmacopoeia National Formulary, USP XXIII, 1995.