

CENTRO NACIONAL DE BIOPREPARADOS (BIOCEN)

## Caracterización de un extracto de *Ipomoea batatas* para ser utilizado en calidad de base nutritiva en medios de cultivo

Ing. Tamara Lobaina Rodríguez,<sup>1</sup> Dr. Claudio Rodríguez Martínez<sup>2</sup> y Dra. Raisa Zhurbenko<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se caracterizó para su empleo en calidad de base nutritiva un extracto de *Ipomoea batatas*, obtenido por hidrólisis enzimática con alfa amilasa. Se destacó entre sus indicadores de calidad, el contenido de carbohidratos totales con valores superiores a 50 % respecto a su masa nominal, determinado por el método fenol-sulfúrico. Se detectó igual contenido de nitrógeno amínico, cuantificado por el método de valoración potenciométrica en presencia de formaldehído, y del nitrógeno total (0,23 %), valorado por el método de Kjeldahl. El contenido de elementos minerales necesarios para el cultivo microbiano se determinó por el método de absorción atómica. El estudio de la reactividad biológica del extracto vegetal mostró la presencia de aminoácidos esenciales para los microorganismos, como son triptófano, cistina y cisteína. Se demostró la capacidad del extracto vegetal, empleado como única fuente de nutrientes a diferentes concentraciones (2, 4 y 10 %), de promover el crecimiento de bacterias y levaduras. El incremento de biomasa, determinado en un medio especialmente diseñado (SIGMA, EE. UU.), alcanzado para 2 cepas de *Candida albicans* fue significativamente superior al logrado con otras bases nutritivas, como peptona de soya, extracto de levadura, triptona y peptona micológica. Se evidenció que el extracto vegetal como componente de un medio de cultivo no contiene compuestos con efecto antibacteriano, porque a concentraciones desde 15 hasta 30 g/L, logró promover el crecimiento microbiano hasta valores (UFC/mL) similares a los obtenidos con el medio de referencia agar triptona soya.

**Palabras clave:** *Ipomoea batatas*, extracto vegetal, bases nutritivas, cultivo de microorganismos

Tradicionalmente se han empleado hidrolizados proteicos de origen animal para la obtención de productos biotecnológicos a partir de fermentaciones controladas. Sin embargo, el incremento de nuevos brotes de virus y su peligro de transmisión de los animales al hombre, ha llevado a las industrias alimenticia y biotecnológica a la búsqueda de nuevas fuentes de nutrientes de origen vegetal, que garanticen la obtención de un producto de elevada calidad según las regulaciones vigentes al nivel internacional.<sup>1-3</sup>

Para el cultivo de microorganismos también se han utilizado diferentes bases nutritivas de origen vegetal, como son el extracto de malta, papa,

maíz, reportadas por *Bridson* y de arroz, col, zanahoria, entre otras.<sup>4,5</sup>

Las raíces y los tubérculos tropicales son fuentes importantes de alimentos ricos en energía. *Ipomoea batatas* es uno de los cultivos más importantes y versátiles del mundo, produce más alimento que cualquier otra raíz con aportes importantes de provitamina A y ácido ascórbico.<sup>6</sup> El contenido de proteínas, grasa y fibra es bajo, pero la elevada fracción de nitrógeno libre es un indicativo de su valor potencial, principalmente como una fuente de energía. Los carbohidratos presentes se encuentran en cantidades de 80 a 90 % con respecto a su peso seco y, por otro lado, el almidón

<sup>1</sup> Máster en Ciencias en Biología Vegetal. Ingeniera Química. Investigadora Agregada. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen).

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias Técnicas. Ingeniero Tecnólogo. Investigador Titular. BioCen.

<sup>3</sup> Doctora en Ciencias de los Alimentos. Ingeniera Tecnóloga. Investigadora Titular. BioCen.

contenido sin tratamiento de cocción es muy resistente a la hidrólisis por la alfa amilasa.<sup>6,7</sup>

De *Ipomoea batatas* se han evaluado propiedades bioactivas y funcionales, como su actividad antioxidante, conveniente en el cultivo de tejidos y células superiores, el contenido de antocianinas y fenoles y su efecto antimicrobiano.<sup>8-10</sup>

El empleo de métodos hidrolíticos de proteínas o de fuentes de carbono, propician la obtención de un producto con un adecuado contenido de sustancias nitrogenadas de origen proteico y de sustancias aportadoras de energía, que garantizan la calidad de las bases nutritivas para el cultivo de microorganismos,<sup>11</sup> pero hasta la fecha no se ha abordado la obtención de un extracto de *Ipomoea batatas* con estos fines.

El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar un extracto nutritivo de *Ipomoea batatas* obtenido por un método hidrolítico.<sup>12</sup> Se determinaron sus principales indicadores físico-químicos, organolépticos y microbiológicos, con el fin de emplear el extracto como base nutritiva para el cultivo de diferentes especies microbianas.

## MÉTODOS

Se obtuvieron 3 lotes industriales de 10 kg de extracto de *Ipomoea batatas*, por el proceso hidrolítico recomendado por Rodríguez y otros.<sup>12</sup> La raíz se trituró en un molino industrial y se mezcló con agua desionizada. Se realizó un tratamiento previo con calor hasta ebullición con agitación continua. Se adicionó nuevamente agua desionizada y se estabilizó la temperatura y el pH para garantizar la actividad de la enzima alfa amilasa para la conversión total del almidón presente, en componentes orgánicos de menor peso molecular y de mayor solubilidad. El material soluble se clarificó a través de placas filtrantes y se purificó eliminando los compuestos insolubles presentes. Se concentró el filtrado utilizando un evaporador de película fina descendiente y turbulenta de la firma LUWA y se secó por aspersión en un secador de la firma NIRO ATOMIZER.

### Caracterización del extracto vegetal

Se realizó la caracterización organoléptica y físico-química según lo descrito por Zhurbenko

para las bases nutritivas,<sup>11</sup> pérdida por desecación, carbohidratos totales, detección cualitativa de almidón,<sup>13</sup> triptófano libre, cloruros (como NaCl) en presencia de proteínas por el método de Volhard,<sup>14</sup> contenido de nitrógeno amínico<sup>15</sup> y el contenido de nitrógeno total, según el método de Kjeldahl.<sup>16</sup> Para la determinación del pH se prepararon soluciones de la base nutritiva al 2 % (p/p), se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 min; posteriormente se dejaron refrescar hasta la temperatura de 25 °C y se procedió a medir el pH en un pH-metro (PHM 83 AUTOCAL-Dinamarca).

Se determinó la capacidad amortiguadora del extracto vegetal expresada como los milimoles de ácido clorhídrico 1 N o hidróxido de sodio 1 N necesarios para causar un cambio en una unidad del pH.<sup>17</sup> El rendimiento del producto se determinó, expresando el porcentaje de la relación del contenido de sólidos totales presentes en el polvo con respecto a la masa seca de sustrato proteico sometido al proceso hidrolítico. La determinación de potasio, sodio, calcio, magnesio, zinc, manganeso, cobre, cobalto plomo y cadmio se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica SP9 de la Pye Unicam System<sup>18,19</sup> y el contenido de fósforo, por el método colorimétrico vanadato-molibdato en un espectrofotómetro UV-vis de la Pye Unicam System.<sup>20</sup>

### Material biológico

Para el estudio de promoción del crecimiento microbiano en diferentes formulaciones de medios, se utilizaron cepas certificadas de bacterias y levaduras provenientes de la American Type Culture Collection (ATCC), entre ellas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 17111 y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9080. El pH de los medios especialmente formulados se ajustó a 7,0 para las bacterias y a 6,5 para las levaduras. Los cultivos se incubaron a la temperatura óptima para las bacterias (35 ± 2 °C) y para las levaduras (30 ± 2 °C), y se interpretaron los resultados a las 24 h.

## Evaluación microbiológica del extracto vegetal

La detección de sulfuro de hidrógeno, producción de indol, presencia de carbohidratos fermentables y producción de acetilmetilcarbinol (prueba de Voges-Proskauer) se realizaron por los métodos recomendados por la USP XXIV.<sup>13</sup>

Para evaluar la capacidad de promoción del crecimiento microbiano se formularon medios de cultivo simples que contenían el extracto vegetal a concentraciones de 2, 4 y 10 %, combinados con cloruro de sodio 0,5 % (p.a., Applichem, Alemania) y fosfato de sodio 0,1 % (p.a., Applichem) (SIGMA. Biochemicals and Reagents for Life Science Research. 2000:153).

El incremento de la biomasa microbiana de 2 cepas de *Candida albicans* (ATCC 10231 y 17111) en el tiempo, proporcionada por el extracto de *Ipomoea batatas*, se comparó con el logrado con otras bases nutritivas comerciales, como son triptona (BioCen, Cuba), peptona de soya (Biotécnica Internacional, México), extracto de levadura (BioCen) y peptona micológica (BioCen). El medio de cultivo especialmente diseñado se formuló con 2 % de la base nutritiva, según recomendación SIGMA SIGMA. Biochemicals and Reagents for Life Science Research. 2000:153).

Las curvas de crecimiento se elaboraron a partir de los valores de absorbancia medidos cada 1 h en un espectrofotómetro HACH, Modelo DR 4000, EE. UU., a 640 nm; los cultivos de bacterias y levaduras se mantuvieron a la temperatura óptima de cultivo. La dinámica del crecimiento para levaduras y bacterias se evidenció mediante curvas de crecimiento en el tiempo y se expresó gráficamente el incremento de la absorbancia como  $(ABS t_h - ABS t_0) / ABS t_0$ , donde  $ABS t_h$ : valores de absorbancia medidos en cada hora de cultivo y  $ABS t_0$ : absorbancia en el tiempo cero.

## Actividad inhibitoria

Para determinar si a elevadas concentraciones el extracto de *Ipomoea batatas* era capaz de promover el crecimiento de bajas concentraciones de bacterias con requerimientos especiales, se formularon diferentes medios de cultivo que contenían 15, 20, 25 y 30 g/L del extracto de *Ipomoea batatas*, junto con 17 g/L de hidrolizado enzimático

de caseína (BioCen), 5 g/L de cloruro de sodio (p.a., Applichem) y 15 g/L de agar (Agarmex de México).<sup>17</sup> La inoculación se realizó utilizando 0,2 mL de altas diluciones microbianas, este volumen se distribuyó con una espátula de Drigalsky sobre la superficie del medio en la placa. Los resultados fueron comparados con agar triptona soya (BioCen).

## RESULTADOS

El producto obtenido con ayuda del método hidrolítico resultó un polvo fino, muy higroscópico, homogéneo, fluido, sin grumos y sin partículas extrañas, fácilmente soluble en agua y su solución al 2 % (p/p) presentó un color amarillo, transparente y brillante.

La media de los indicadores de calidad físico-químicos que caracterizan los 3 lotes industriales del extracto vegetal se presentan en la tabla 1.

**TABLA 1.** Indicadores de calidad físico-químicos del extracto de *Ipomoea batatas*

Indicador	Media de los valores obtenidos $\pm$ DE
Pérdida por desecación (%)	3,03 $\pm$ 0,24
Contenido carbohidratos totales (%)	58,06 $\pm$ 2,76
Presencia de almidón	Negativo
Contenido de triptófano (%)	0,14
Cloruros (NaCl) (%)	1,53 $\pm$ 0,08
Contenido de nitrógeno amínico (%)	0,23 $\pm$ 0,01
Contenido de nitrógeno total (%)	0,23 $\pm$ 0,01
Relación nitrógeno total/ Nitrógeno amínico (%)	100
pH en solución acuosa al 2 %	5,14 $\pm$ 0,11
Capacidad buferante frente a los ácidos	0,37 $\pm$ 0,01
Capacidad buferante frente a los álcalis	0,37 $\pm$ 0,01
Color de la solución al 2 %	Amarillo
Rendimiento industrial (%)	50,34 $\pm$ 7,96

DE: desviación estándar.

La pérdida por desecación resultó 3,03  $\pm$  0,24 %. El método definido a escala industrial, permitió obtener el extracto con un contenido de carbohidratos totales de 58,06  $\pm$  2,76 % y no se detectó almidón. Se distinguió, entre otros indicadores de calidad, la presencia de triptófano libre en 0,14 %. El contenido de cloruros se mantuvo en 1,53  $\pm$  0,08 % y el de nitrógeno amínico

coincidió con el del nitrógeno total ( $0,23 \pm 0,01$  %), para 100 % de su relación.

Se logró obtener un extracto con una capacidad amortiguadora idéntica frente al ácido clorhídrico y al hidróxido de sodio e igual a  $0,37 \pm 0,01$ . El rendimiento industrial ( $50,34 \pm 7,96$  %) resultó elevado si se tiene en cuenta que se trata de una base nutritiva obtenida por extracción de una raíz que contiene alrededor de 60 % de agua.

El análisis del contenido de macronutrientes y micronutrientes minerales (tabla 2) mostró que el extracto vegetal contiene potasio, sodio, fósforo y fosfato, calcio, magnesio, zinc, manganeso, cobre, plomo y cadmio.

El contenido de potasio, sodio y fósforo (libre y en forma de fosfato) se encontró en un porcentaje entre 0,37 y 1,93 sobre la base de 100 g de extracto vegetal. Las concentraciones de calcio y magnesio correspondieron a 301 y 227 mg/g, respectivamente. El zinc se cuantificó en 3,33 mg/g y el resto de los elementos se mantuvo por debajo de 0,1 mg/g del producto.

Los indicadores de la reactividad biológica del extracto nutritivo (tabla 3) resultaron adecuados, se corroboró la presencia de carbohidratos fermentables y de aminoácidos como: triptófano, cistina y cisteína.

La existencia de triptófano se evidenció por la producción de indol con *Escherichia coli* como control positivo de la prueba y *Enterobacter aerogenes* como control negativo. La presencia de aminoácidos sulfurados (cistina y cisteína) se detectó con *Salmonella typhimurium*, por la prueba de producción de sulfuro de hidrógeno.

La determinación cualitativa de carbohidratos fermentables, coincidió con los resultados encontrados en la tabla 1 (contenido de carbohidratos totales), y resultó positiva para *Escherichia coli*, microorganismo utilizado como control.

Se manifestó un elevado grado de hidrólisis de las proteínas presentes en la raíz reservante, según la prueba de acetilmetilcarbinol, la cual resultó positiva para el control de *Enterobacter aerogenes*.

El ensayo de promoción del crecimiento microbiano demostró que el extracto nutritivo de *Ipomoea batatas*, empleado como única fuente de nutrientes, a concentraciones de 2, 4 y 10 % en un medio de cultivo simple, fue capaz de promover el crecimiento de bacterias y levaduras (fig. 1).

*Escherichia coli* (fig. 1a) y *Enterobacter aerogenes* (fig. 1b) manifestaron un incremento de biomasa inversamente proporcional a la concentración del extracto nutritivo, alcanzando los

**TABLA 2.** Composición de macroelementos y microelementos en el extracto de *Ipomoea batatas*

Elemento	K	Na	P	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca	Mg	Zn	Mn	Cu	Co	Pb	Cd
UM	%						µg/g					
Media	1,90	1,93	0,37	1,17	301	227	3,33					
Desviación estándar	0,20	0,15	0,02	0,06	2	30	1,04			menor que 0,1		

**TABLA 3.** Reactividad biológica del extracto de *Ipomoea batatas*

Microorganismo	Producción de indol	Pruebas funcionales		Carbohidratos fermentables
		Producción de sulfuro de hidrógeno	Producción de acetilmetilcarbinol	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Positivo (CP)	Negativo (CN)	Negativo (CN)	Positivo (CP)
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	Negativo (CN)	-	Positivo (CP)	-
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	Positivo (CP)	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	-	-	-	Negativo (CN)

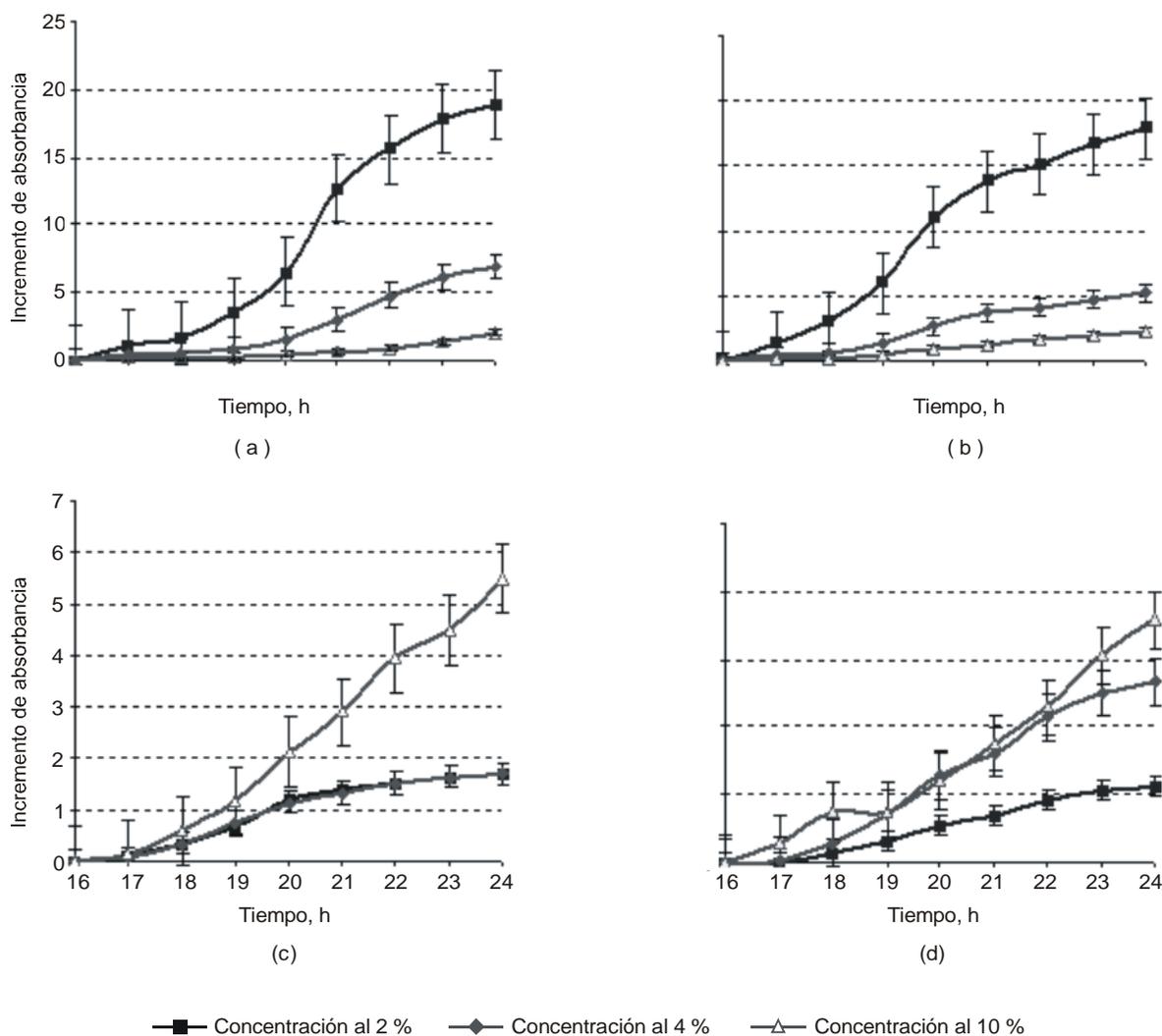
CP: control positivo, CN: control negativo, -: no se ensaya frente a este microorganismo.

mayores valores a la concentración más baja (2 %). La masa microbiana logró multiplicarse a partir de su valor inicial para *Escherichia coli* hasta 18 veces y para *Enterobacter aerogenes* cerca de 35 veces, utilizando el extracto vegetal a una concentración de 2 % en el medio simple.

Sin embargo, para *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* (figs. 1c y 1d, respectivamente) se encontró una relación directa en cuanto al incremento de la biomasa y las concentraciones del extracto vegetal ensayadas. Se registró un incremento de biomasa para *Saccharomyces cerevisiae* de 5,5 veces respecto al valor inicial y para *Candida albicans* de 3,5 veces utilizando el

extracto vegetal al 10 % de concentración en el medio simple.

Al comparar la funcionalidad biológica del extracto vegetal con la de otras bases nutritivas comerciales de distintos orígenes proteicos, como caseína, soya, músculo animal y levadura, el nuevo extracto proporcionó un incremento de biomasa significativamente superior para las cepas de colección *Candida albicans* ATCC 17111 (fig. 2a) y *Candida albicans* ATCC 10231 (fig. 2b). Se alcanzaron valores de biomasa, para ambas especies, que duplicaron la concentración inicial de inóculo microbiano durante un período de 24 h de cultivo.



**Fig. 1.** Incremento de la absorbancia de los cultivos (a) *Escherichia coli* ATCC 25922, (b) *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, (c) *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9080 y (d) *Candida albicans* ATCC 10231 en el tiempo al emplear la base nutritiva de *Ipomoea batatas* a 2, 4 y 10 % de concentración.

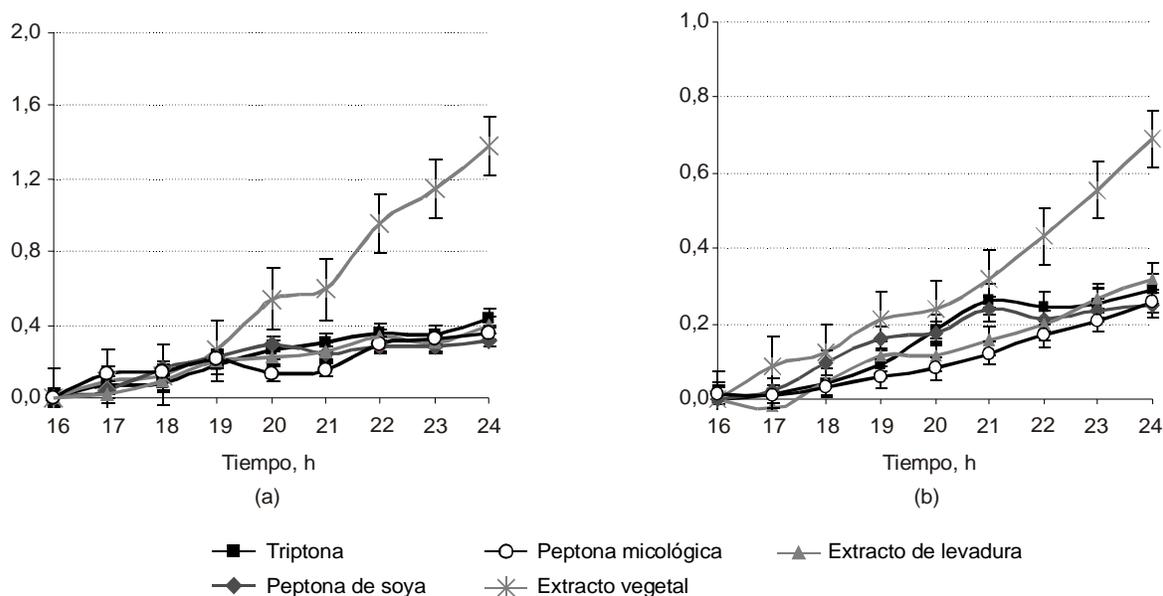


Fig. 2. Crecimiento de 2 cepas de *Candida albicans* (a) ATCC 17111 y (b) ATCC 10231 en medios simples formulados con la nueva base nutritiva y con otras existentes en el mercado.

La ausencia de la actividad inhibitoria del extracto de *Ipomoea batatas* se evidenció al formular cuatro medios de cultivo con diferentes concentraciones elevadas del extracto. Este fue capaz de promover el crecimiento de diferentes especies de bacterias, pertenecientes a varios géneros. Las composiciones formuladas lograron recuperar, en solo 24 h, similar proporción de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), de especies microbianas como *Serratia marcescens* ( $82 \pm 6$  UFC/mL), *Shigella flexneri* ( $110 \pm 1$  UFC/mL), *Enterobacter aerogenes* ( $107 \pm 2$  UFC/mL), *Citrobacter freundii* ( $113 \pm 5$  UFC/mL), *Proteus vulgaris* ( $109 \pm 1$  UFC/mL) y *Salmonella typhimurium* ( $115 \pm 2$  UFC/mL), a diluciones tan elevadas como  $10^{-5}$ , en el mismo orden que en el medio de referencia agar triptona soya ( $80 \pm 13$ ,  $112 \pm 1$ ,  $100 \pm 1$ ,  $110 \pm 3$ ,  $111$  y  $107 \pm 9$  UFC/mL de cada especie microbiana, respectivamente).

## DISCUSIÓN

La elevada solubilidad y transparencia de la solución acuosa del extracto nutritivo son características organolépticas favorables para una base nutritiva, la primera garantiza la disponibilidad de todos sus nutrientes disueltos en el medio de culti-

vo para ser asimilados por los microorganismos, y la segunda es muy conveniente porque, en los caldos formulados, la aparición de turbiedad es un indicador del crecimiento microbiano.

Según Zhurbenko,<sup>11</sup> el valor de pérdida por desecación inferior a 7 % resulta un requisito de calidad fundamental para este tipo de producto altamente higroscópico. Los bajos valores de humedad permiten una mayor estabilidad del producto durante su conservación, al evitar la interacción química y la degradación de sus componentes.

El contenido elevado de carbohidratos totales reflejó que el método de hidrólisis con exo-enzimas reportado por Rodríguez y otros lograron extraer los azúcares libres contenidos en la raíz y recuperar de manera eficiente los azúcares derivados de la hidrólisis completa del almidón.<sup>12</sup> La conversión total del almidón en otros componentes carbonados más simples se evidenció al no detectar cualitativamente su presencia.

El triptófano en el extracto vegetal le confiere características adecuadas para el cultivo de microorganismos, porque este aminoácido resulta esencial para la realización de las funciones metabólicas microbianas.

Los valores obtenidos de cloruro de sodio para los lotes producidos corresponden con los reportados por Bridson<sup>4</sup> y Zhurbenko,<sup>11</sup> y se encuentran

por debajo de 9 %. A estas concentraciones el cloruro de sodio no ejerce efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano y resulta beneficioso como regulador del equilibrio osmótico en el medio de cultivo.

A pesar de que el contenido de proteínas en la raíz reservante de *Ipomoea batatas*, reportado por *Maeshima* y otros,<sup>21</sup> se encuentra de 1 a 3 %, el proceso de cocción y la agitación de la mezcla sustrato-agua, utilizada en la fabricación del extracto vegetal, posibilitó la extracción de componentes nitrogenados de idéntica relación del nitrógeno amínico y del nitrógeno total, característica, según reportes de *Bridson*,<sup>4</sup> no lograda en ninguna de las bases nutritivas de origen vegetal conocidas.

Resultó interesante establecer que el extracto vegetal posee la misma capacidad de amortiguación del pH, tanto para los ácidos como para las bases, porque las bases nutritivas conocidas generalmente presentan diferentes valores de este indicador ante ambos tipos de sustancias químicas.<sup>17</sup> Esta propiedad es conveniente al formular medios de cultivo que contengan entre sus ingredientes sustancias que, al ser utilizadas por los microorganismos, generan metabolitos que alteran el pH del medio, y ese cambio puede ser amortizado por el propio extracto vegetal.

Los indicadores de calidad organolépticos y fisico-químicos encontrados en el extracto de *Ipomoea batatas* corresponden satisfactoriamente con otros extractos de similar naturaleza proteica, diseñados para el cultivo de microorganismos.<sup>4</sup>

Los macroelementos y microelementos minerales encontrados en el extracto vegetal son fundamentales para el crecimiento de diversas especies microbianas. Se destacan las elevadas concentraciones de potasio, fósforo, en forma de fosfato, y calcio, mayores que las reportadas para otros extractos de origen vegetal, por ejemplo, extracto de malta.<sup>17</sup>

La presencia de tales iones minerales en el extracto, según *Bridson*,<sup>17</sup> garantiza el crecimiento satisfactorio de los microorganismos dado a las funciones biológicas que estos minerales desempeñan dentro del medio de cultivo.

El contenido de estos elementos en el extracto vegetal permite formular medios de cultivo sin necesidad de suplementarlos con otros compuestos químicos.

Los hallazgos obtenidos en relación con la presencia de aminoácidos esenciales para el cultivo de microorganismos (triptófano, cistina y cisteína) en el extracto vegetal, indican una muy favorable calidad nutricional de esta base nutritiva.

La presencia de triptófano libre, revelado por la actividad triptofanasa de *Escherichia coli* y la correspondiente producción de indol, coincide con los datos cuantitativos reflejados en la tabla 1. Por otra parte, mediante del metabolismo de *Salmonella thyphimurium* con respecto a los aminoácidos sulfurados presentes en el extracto vegetal, se logró detectar la presencia de cistina y cisteína, considerados indispensables para el crecimiento microbiano, por la incapacidad que poseen los microorganismos de sintetizarlos, y para soportar las funciones que desempeñan en el crecimiento microbiano.

La detección de carbohidratos fermentables en el extracto vegetal resulta muy conveniente, pues estos actúan como fuentes nutritivas carbonadas que aportan energía al cultivo microbiano, característica muy generalizada en otros extractos de similar naturaleza.<sup>17</sup> Cualitativamente se demostró el contenido de carbohidratos por el cambio de color del indicador de pH, dado por la producción de ácido y gas, a partir de la fermentación de los compuestos carbonados presentes. Estos compuestos carbonados surgen como resultado de la degradación del almidón presente en el sustrato vegetal, acorde a lo señalado por *Navas* y otros,<sup>6</sup> por la acción de la alfa amilasa y del tratamiento térmico. De acuerdo con *Hagenimana* y otros,<sup>7</sup> los carbohidratos presentes (glucosa, fructuosa, maltosa, sacarosa, maltotriosa y dextrinas), son portadores de energía en los cultivos microbianos y le confieren propiedades originales al extracto para ser empleado en medios de cultivo de propósito general.

Las formulaciones evaluadas con varias concentraciones del extracto vegetal, como única fuente de nutrientes al 2, 4 y 10 %, poseen diferentes composiciones nutricionales.

Los valores de producción de biomasa alcanzados para las bacterias durante 9 h de cultivo, se explican porque la multiplicación de las bacterias es un proceso simple y se realiza con una rapidez considerable, mediante continuados procesos de división binaria. En condiciones favorables, solo en

20 min, las bacterias pueden alcanzar su máximo valor y dividirse en 2 nuevos individuos y el número de microorganismos resultante es extremadamente elevado.<sup>22</sup>

Los niveles de concentración de las sustancias nutritivas carbonadas, nitrogenadas y minerales que el extracto posee, influyen en el desarrollo y crecimiento bacteriano. Las elevadas concentraciones del extracto vegetal 10 y 4 %, lejos de favorecer la nutrición microbiana, afectó el crecimiento de las bacterias. Este hecho puede estar relacionado con la composición propia del extracto vegetal que posee un porcentaje de nitrógeno amínico relativamente bajo respecto a otras bases nutritivas de diferente naturaleza proteica. Las sustancias nitrogenadas son menos preferidas frente a la alta disponibilidad de carbohidratos y, al parecer, estos últimos son primeramente asimilados por las bacterias. La multiplicación de las bacterias se retarda de manera considerable, pues la disponibilidad de principios nutritivos no continúan siendo favorables durante mucho tiempo, porque los productos de desecho propios del metabolismo se acumulan y tienden a disminuir el ritmo de multiplicación. Ocurren grandes cambios que pueden producirse en poco tiempo, como son la acidificación del medio de cultivo, elemento significativo para el cultivo de bacterias, y resulta óptimo el punto de neutralidad o cerca de este (pH de 6,8 a 7,5).<sup>23</sup>

Por otro lado, los incrementos de biomasa alcanzados por las levaduras son menores al compararlos con los logrados para las bacterias. Esto es porque las levaduras realizan una variedad extraordinariamente amplia de complejas reacciones químicas asociadas con el crecimiento, reproducción y mantenimiento. Su forma de reproducción es más compleja que la de las bacterias y por ello su crecimiento es más lento.<sup>22</sup> Sin embargo, la presencia de sustancias carbonadas favorecen sus requerimientos nutricionales. La presencia de enzimas, como son las carbohidrasas en las levaduras, así como la variedad de elementos minerales presentes en el extracto vegetal que actúan como cofactores enzimáticos, permiten la acción sobre los carbohidratos disponibles en el medio. A pesar de que la degradación de los carbohidratos origina, a su vez, considerables cantidades de ácido y gas, este hecho no afecta el desarrollo de las levaduras, las cuales se desarrollan de manera favorable a pH ácido.<sup>4,23</sup>

El incremento significativamente superior de la biomasa microbiana alcanzada por el extracto de *Ipomoea batatas*, respecto a otras bases nutritivas comerciales, se debe a que, para el cultivo de levaduras se eligen, con particular interés, bases nutritivas ricas en sustancias carbonadas.<sup>23</sup>

Varios autores coinciden que los extractos de origen vegetal, como el extracto de malta, extracto de arroz, extracto de harina de maíz, extracto de papa, entre otros, empleados para formular medios de cultivo diseñados para el cultivo, aislamiento y mantenimiento de levaduras y mohos, poseen entre sus indicadores de calidad, la presencia de sustancias nutritivas carbonadas con porcentajes superiores a 50 % respecto a la masa seca del producto, capaces de proporcionar condiciones de crecimiento precoz y exuberante.<sup>4,23</sup>

Resulta interesante la no existencia de diferencias significativas entre los recuentos de las especies de bacterias evaluadas, a concentraciones de hasta 30 g/L del extracto vegetal en las formulaciones ensayadas, con respecto al medio de referencia agar triptona soya, a pesar de que algunas de ellas poseen requerimientos nutricionales especiales.

En varios trabajos anteriores se ha reportado el uso de extractos de origen vegetal con el fin de inhibir bacterias y hongos, basado en sus compuestos antioxidantes (ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles o taninos y flavonoides), repartidos en diversos órganos, en especial raíces, como es el caso del sustrato empleado.<sup>24,25</sup> Sin embargo, este resultado pone de manifiesto que el proceso de obtención del extracto vegetal elimina los inhibidores microbianos presentes en la raíz de *Ipomoea batatas* reportados por *In-Chang* y otros<sup>9</sup> y *Decker* y *Jaenicke*,<sup>10</sup> que evidenciaron la presencia de las peroxidases en la batata.

El extracto de *Ipomoea batatas*, obtenido a través del proceso hidrolítico, posee indicadores de calidad que lo convierten en una excelente base nutritiva capaz de garantizar el crecimiento de bacterias y levaduras.

#### **Characterization of *Ipomoea batatas* extract to be used as nutrient basis for culture media**

#### **SUMMARY**

An *Ipomoea batatas* extract obtained by enzymatic hydrolysis with alpha amylase was characterized to be used as nutrient basis. Among its quality indicators, it had a content of over 50%

whole carbohydrates with respect to the nominal mass, estimated by phenol-sulphur method. The same content of aminonitrogen detected and quantified by potentiometric titration using formaldehyde and of total nitrogen (0,23%) by Kjeldahl method were detected. The content of necessary mineral elements for microbial culture was determined by the atom absorption method. The study of biological reactivity of the vegetal extract showed the existence of essential aminoacids such as triptophane, cystine and cysteine for microorganisms. It was proved that the vegetal extract, when used as the only source of nutrients at various concentration levels (2, 4 and 10%), is capable of stimulating the growth of bacteriae and yeasts. The increase of two *Candida albicans* biomass, determined in a specially designed medium (SIGMA, USA), was significantly higher to that of other nutrient bases like soy peptone, yeast extract, triptone and micological peptone. It was evinced that the vegetal extract as a culture medium component did not have antimicrobial effect compounds since at 15-30 g/L concentrations, this extract did stimulate the microbial growth up to values (UFC/mL) similar to those of the reference media called agar triptone soy.

**Key words:** *Ipomoea batatas*, vegetal extract, nutrient bases, microorganism culturing.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nielsen PM, Eriksen S, Hansen OR, Kristensen SE, Hwass P, inventors; Novo Nordisk A/S, assignee. Method for production of a vegetable protein hydrolysate with proteases. United States patent 5,716,801. 1998 Feb 10.
- Zhurbenko R, Rodríguez C, Díaz M, Duran A, López OD y Viera DR. 2006. Caracterización de la peptona de soya para el cultivo de microorganismos. *Rev Cubana Med Trop* 2006;58(2).
- Millan Rodríguez F, Bautista Palomas J, Ollas Jiménez JM, inventors; Universidad de Seville, assignee. Process for obtaining plant peptones with a high hydrolysis degree and applications thereof. WO patent 9,823,170. 2002 April 16.
- Bridson EY. The OXOID Manual. 8<sup>th</sup> ed. OXOID Limited. United Kingdom:Wade Road, Basingstoke; 1998. p. 389.
- Buzoleva LS, Somov GP, inventors; Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Division of Russian Academy of Medical Sciences, assignee. Nutrient medium for culturing and quantitative estimation of *Yersinia* and *Listeria* in environment objects. RU patent 2161655 C2. 2001.
- Navas PB, Carrasquero A y Mantilla J. Avances en la caracterización química de la harina de batata (*Ipomoea batatas*) var. Carolina. *Rev Fac Agron (LUZ)*. 1999;16:11-8.
- Hagenimana V, Simard RE, Vezina LPh, inventors; Universite Laval; Agriculture and Agri-Food Canada (Quebec, CA), assignee. Method for the hydrolysis of starchy materials by sweetpotato endogenous amylases. United States patent 5,525,154. 1996 Jun 11.
- Cook PW, inventor; Cascade Biologics, Inc. assignee. Animal product-free cell culture media extracts, supplements and culture media supplement systems. United States Application 2060094114. 2006 May 04.
- In-Chang J, Soo-Young P, Kee-Yeun K, Suk-Yoon K, Jang-Guk K and Sang-Soo K. Differential expression of 10 sweetpotato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pectobacterium chryanthemi*. *Plant Physiol Biochem*. 2004;42(5):451-5.
- Decker H, Jaenicke E. Recent findings on phenoloxidase activity and antimicrobial activity of hemocyanins. *Developmental Comparative Immunol*. 2004;28(7-8):673-87.
- Zhurbenko R. Metodología para el aprovechamiento de los subproductos de la industria alimenticia y otras proteínas en la evaluación de la calidad sanitaria de los alimentos [Tesis doctoral]. La Habana: Universidad de La Habana; 2005.
- Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, García Marichal JM. Base nutritiva a partir de raíz reservante de *Ipomoea batatas* y método para su obtención. La Habana:No. Solicitud de Patente OCPI: 2006-0019. 2006.
- United States Pharmacopoeial Convention and National Formulary. USP XXIV. The United States Pharmacopoeia. 24 ed. Rockville Md: Mck Printing; 2000, p. 1438-2046.
- Runova VF, Bendas LG, Maksimova GA, Preobrazhenskaya EI, Raskin BM, Mielnikov VA. Metodicheskoe ukazanie po primieniyu fiziko-khimicheskikh mietodov kontrolya pitatielnikh sried. Moscú: Ed. Mir; 1977. p. 5-10.
- Morris Quevedo HJ, Almarales Arceo A, Romero Viamonte K y Vidal Colás M. Validación de un método potenciométrico para la determinación de nitrógeno amínico en hidrolizados proteicos de microalgas. *Rev Cubana Farm*. 2002;36(1):56-61.
- Tecator. Determination of Kjeldahl nitrogen content with Kjeltec System 1026. Sweden:Application Note; 1987.
- Bridson EY. The development, manufacture and control of microbiological culture media. United Kingdom: Unipath Ltd; 1994. p. 27-28, 39.
- ISO 6490/1. International Standard. Animal feeding stuffs – Determination of magnesium content – Part 1: Atomic absorption spectrometric method. 1983.
- ISO 6490/2. International Standard. Animal feeding stuffs – Determination of calcium content – Part 2: Atomic absorption spectrometric method. 1983.
- AOAC. Official method of analysis, 16<sup>th</sup> ed. Washington, D.C.:Association of Official Analytical Chemists; 1995.
- Maeshima M, Sasaki T, Asahi T. Characterization of major proteins in sweet potato tuberous roots. *Phytochemistry*. 1985;24:1899-902.
- Merchant IA, Packer RA. Bacteriología y Virología Veterinarias. Ira. Reimpresión. Zaragoza: Acribia; 1975. p.45-87.
- Merck Microbiology Manual. 12<sup>th</sup> edition. Darmstadt: Merck; 2006. p. 688.
- Hernández M, García L, Rojo DM, Olivares D. Almendro de la India: potencial biológico valioso. *Rev Cubana Invest Biomed* 2003;22(1). Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/>
- Silva Beldares Y, Oranday Cárdenas A, Verde Star J, Cruz Vega DE, Rivas Morales C, Carranza Rosales P. Fracciones con actividad antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica*, *Ricinus communis* y *Schinus molle*. *Rev Salud Pùb Nut* 2003;2. (Edición especial)

Recibido: 20 de febrero de 2007. Aprobado: 30 de marzo de 2007.

Ing. *Tamara Lobaina Rodríguez*. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen), Apartado 6048, Habana 6, CP 32600, Cuba. Teléf.: (047) 68-2441, Fax: (53 7) 33 8439. Correo electrónico: lobaina@biocen.cu