



HIDROLISIS DE PROTEINAS DE ORIGEN ANIMAL EN BASE A MICROORGANISMOS PROTEOLITICOS * **

PROF. VÍCTOR H. BERTULLO ***

INTRODUCCION

Desde 1950 a la fecha, se han llevado a cabo diversas investigaciones en lo que respecta a hidrólisis proteica de productos de origen animal, con la finalidad de obtener productos aptos, ya sea para la alimentación humana y animal o para servir de base a medicamentos, aprovechando los elementos que surgen de la escision de la molécula proteica.

La hidrólisis biológica controlada o no, tiende a eliminar los inconvenientes de las de origen físico y químico, que en la generalidad de los casos, racemizan los aminoácidos resultantes, volviéndolos inactivos y por ende inefectivos para su ulterior aprovechamiento (14, 20, 25).

La producción de levaduras lisadas para utilizar sus enzimas endógenas, el uso de microorganismos, han originado distintas técnicas que llevan a la transformación o bien a la conservación del producto tratado.

Efectivamente, Hall y Sair (18), hidrolizan proteínas animales tales como la caseína en presencia de proteasas del tipo de la tripsina, papaína, ficina, erepsina, bromelina, etc. y de las endoenzimas de *Saccharomyces cerevisiae* (Hansen), cuya célula lisan previamente con una mezcla de alcohol-éter.

Carl (12), produce una pasta de pescado denominada "ensilado", previa acidificación de la misma, utilizando una bacteria láctica, el

* Trabajo aprobado en el 2º Congreso de Ciencias Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata, Argentina. 20-21 de octubre de 1961.

** Presentado para su publicación el 1º de diciembre de 1961.

*** Director del Instituto. Profesor Titular de Tecnología Pesquera.

Streptobacterium plantarum (Orla-Jensen) que mantiene sus cualidades de conservación durante un tiempo considerable.

Krishna Pillai (23), trata pescado molido con suero de leche descremada, que presumiblemente contiene bacterias lácticas y obtiene una pasta, que, secada, da una harina de excelente calidad.

Bertullo y Pérez Hettich (2) encuentran una levadura proteolítica, *Saccharomyces platensis proteolytica*, n. sp. que en presencia de pescado molido y melaza de caña de azúcar o de remolacha, hidroliza la molécula proteica, llevándola al estado de polipéptidos y aminoácidos y mantienen el producto transformado —sin adición de preservativos o antibióticos de clase alguna— durante un largo tiempo, sin alteración. Los mismos resultados han obtenido con otras proteínas animales, tales como carne de caballo (3), de ballena (7) y distintos órganos de animales domésticos, sangre, huevos, etc.

Lee (24) comunica que en la preparación de los condensados de solubles de pescado, diversos industriales efectúan la hidrólisis del licor antes de su concentración, en base, presumiblemente, a microorganismos proteolíticos que se encuentran en su masa.

Jiménez Curbelo y Rodríguez Martínez (21) comunican haber obtenido un producto por fermentación microbiana del pescado fresco como única fuente proteica animal de las raciones de los animales domésticos, pero no dan detalles del elemento microbiano que utilizan.

Finalmente, Deas y Tarr (15) hidrolizan carne de pescado con preparados de ciego pilórico de diversos pescados.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con la acción microbiana sobre la molécula proteica, dependen de los métodos utilizados.

La técnica de Carl (12), está basada en la previa acidificación y la acción de bacterias lácticas que al bajar el pH de la pasta, la conservan en buenas condiciones por su marcada acidez. Carda Aparici y Barro Santos (11), alimentan polluelos con dicho producto y concluyen que la sustitución total de la harina de pescado por aquél, disminuye su crecimiento, con aumento del picaje y canibalismo. Sólo obtienen resultados biológicos aceptables con la sustitución de un 50 % de la harina de pescado por el citado hidrolizado. No comprueban toxicidad del producto en todas las experiencias.

Krishna Pillai (23) encuentra que la acción bacteriana induce cierta clase de zimólisis de los componentes grasos de la carne de pescado que son escindidos y simplificados sin afectar las proteínas. El autor no aclara si la molécula proteica es hidrolizada en alguna extensión.

Jiménez Curbelo y Rodríguez Martínez (21), efectúan una fermentación controlada que sin llegar a ser excesiva pudiese destruir algunos aminoácidos esenciales y ponen especial énfasis que con su técnica han conseguido aumentar la digestibilidad de la proteína del pescado que por distintas circunstancias, es menor en las harinas. Encuentran que su producto en la alimentación de pollos, en lo que se refiere a eficiencia alimenticia como a crecimiento ponderal, tiene una ventaja notoria en relación con la harina de pescado, en cuanto a rendimiento del equivalente de pescado fresco. Dichas ventajas se traducen en más peso, menos tiempo para alcanzar un peso dado y menor kilaje de un pienso determinado.

Hall y Sair (18) declaran que la proteína tratada, se hidroliza hasta el 33 % (base seca) de acuerdo a los valores dados por la técnica de Van Slyke. El procedimiento, que lleva unas 48 horas para hacerse efectivo, requiere una inactivación de las proteínas, un calentamiento entre 85-95° C. y un posterior secado para su mejor conservación. Los autores no entregan datos referentes a los resultados obtenidos en su aplicación como alimento del tipo médico, en tratamientos postoperatorios, trastornos gastrointestinales, alergias alimenticias, enfermedades deficitarias, infecciones, quemaduras, heridas, etc.

Bertullo y Pérez Hettich (4), estudian la acción del hidrolizado en los distintos animales, encontrando que una mezcla de 70 % de cebada quebrada o molida, más un 30 % de hidrolizado, constituye un excelente alimento para el cerdo, proporcionando aumentos promediales de 1 kg.-1,200 kgs. por día (5). Por otra parte, el porcentaje de hidrolizado cubre las exigencias proteicas de dicha especie, de acuerdo a lo que Lehmann Lundt, Halnan y Threlkeld (19) recomiendan como necesarias.

Se comprueba que el cerdo desarrolla músculo en detrimento de la grasa y que la grasa de cobertura del jamón que alcanza 6 cms. de espesor en animales alimentados con raciones comunes, sólo llega a 3 cms. en los que ingieren hidrolizado y cebada. El esqueleto en general es de menor desarrollo, pero las masas musculares son mayores, más tiernas, sabrosas y de un color más rojo. El estado del animal es excelente, sobresaliendo el brillo de la cerda. Las hembras aumentan sus pariciones promedialmente entre medio y un lechón y amamantan fácilmente toda la camada.

Los mismos autores (6), en experiencias con pollos de raza New Hampshire, destinados para "broilers" o "parrilleros" comprueban que sustituyendo un 21 % de proteína animal (17 % de harina de carne y 4 % de harina de hígado, ambas con 60 % de proteína bruta), por un 15 % de hidrolizado de pescado, como única fuente de proteína animal, hallan que los espécimen al cabo de 90 días, tenían menor peso de las plumas (50 %); patas más livianas (un 40 %), algunos órganos internos más desarrollados (hígado 100 %), otros más pequeños (corazón, bazo y molleja, alrededor del 40 %) y un ciego más largo, fino y con poco contenido, en contraposición con los testigos que presentaban un ciego corto y repleto de alimento. En muslos del mismo peso, el fémur pesaba un 40 % menos; la quilla se presentaba con menor osificación, pero sin mostrar desviaciones o malformaciones; la carne en crudo presentaba un mejor color y al ser cocida, la prueba de palatabilidad, demostró que era más tierna, sabrosa y jugosa.

En diversas experiencias comprueban también los mismos autores, que el picaje y el canibalismo desaparecen entre 3-5 días cuando las aves son racionadas con hidrolizado y se implanta al cabo de 5-6 días cuando éste se elimina.

En lo relacionado con la transmisión de gustos foráneos a la carne y/o los huevos, pruebas de alimentación durante dos meses, con ensilado como único alimento, preparado con Merluza (*Merlucius merlucius hubbsi*) dieron resultados negativos, tanto en las aves asadas inmediatamente luego de su faenamiento, como aquellas refrigeradas y/o congeladas durante treinta y sesenta días. Otro tanto sucedió con las pruebas de degustación de huevos frescos o mantenidos en refrigerador por lapsos similares y que fueron preparados pasados por agua y fritos.

Bertullo (8) encuentra que el hidrolizado en raciones para conejos de pelo de raza Angora, produce en un lote de 850 animales, los siguientes resultados: pelo más largo, fino, sedoso y brillante, pasando de 5-6 cms. en los testigos, a 10-12 cms. en los alimentados con ensilado, con un aumento del pelo de primera, que pasa del 40 % al 70 %, con disminución y/o desaparición del "jarren" o pelo duro; conveniencia de la esquila cada dos meses en vez de tres como es habitual; capacidad de las hembras de amamantar todos los gazapos paridos, sin necesidad de eliminar las crías como es costumbre; mejoramiento de la sanidad del lote. Es necesario hacer notar que el hidrolizado fue incorporado a una ración científicamente balanceada.

En vacas lecheras Holstein-Frisian, Bertullo y Pérez Hettich (4), comprueban aumento del litraje, que pasa de 12 a 20 litros; de la materia grasa que de 3,5 aumenta a 4,5 % y del extracto seco desengrasado.

Bertullo (9), experimentando en ovinos, comprueba que el hidrolizado favorece finura, longitud, rizado, escamas y producción de suarda de la fibra de lana, encontrando también que hay una manifiesta regresión de los pelos que indican folículos débiles o degenerados, ratificando el concepto de De Cuenca (16, 17), sobre los aminoácidos sulfurados necesarios para formar la queratina de la lana.

DISCUSION

Del estudio de los resultados obtenidos, se desprende que el hidrolizado de pescado elaborado en base del *Streptobacterium plantarum* aparece como una proteína incompleta desde el momento que, según Carda Aparici y Barro Santos (11), hay disminución de crecimiento con aumento del picaje y canibalismo cuando se utiliza solo, lo que hace pensar que la acidificación previa de la mezcla racemiza algunos aminoácidos esenciales, hecho ya comunicado por Cortner (13), Creac'h (14), Jacquemat y Creac'h (20), etc., sucediendo un hecho similar que con la alcalinización (25), afectando la metionina, cistina y lisina, la que actúa como factor limitante (14) en la alimentación en base a granos.

Ratifica este concepto la comunicación de Jiménez Curbelo y Rodríguez Martínez (21), que comprueban que su producto obtenido por fermentación microbiana, incrementa la digestibilidad, agregando que debe también influir un factor desconocido en el crecimiento o en sustancias estimulantes formadas a lo largo de la fermentación.

Estimamos que en la hidrólisis, ya sea de origen ácido o alcalino, aún más en el secado por altas temperaturas, no sólo se afectan los aminoácidos en sí, como en este último aspecto comunican Creac'h (14) y Boge (10), sino que probablemente existe una ruptura entre la correlación aminoácida y sus ligaduras o ataduras con el complejo vitamínico-minero-hormonal del organismo todo que se utiliza como materia prima.

Si bien hemos de tomar en consideración el llamado "factor pescado" o "A. P. F." que, según Creac'h (14), no se trataría de una especie química definida, sino de una mezcla de oligoelementos, los resultados obtenidos en las distintas experiencias nos llevan a pensar que la hidrólisis o "bioproteocatenólisis" (7), por medio de levaduras proteolíticas, escinden la molécula proteica a un nivel que aún nos es desconocido.

Efectivamente, en la alimentación de pollos tipo "broilers" o "parilleros", el 15 % de hidrolizado, al sustituir al 21 % de proteínas animales, enfrenta 2,70 % de proteína "bruta" (hidrolizado con 18 % de proteína) con 13,60 % de la misma proteína (harina de carne y harina de hígado con 60 % de proteína), con resultados similares o superiores.

Si bien debe tomarse en consideración que la digestibilidad del bioproteocatenolizado es del 100 % y la de las harinas fluctúa, término medio, en un 75-80 %, la diferencia sigue siendo tan amplia que la efectividad biológica de aquél es cuatro veces mayor que las de éstas.

En cerdos, 5,4 % de proteína de hidrolizado (30 % de bioproteocatenolizado con 18 % de proteína "bruta") produce animales con menos grasa, esqueleto más pequeño y mayor desarrollo muscular, a pesar que de acuerdo a las normas en vigencia, estamos relativamente bajos en proteína animal.

En vacas lecheras, un 20 % de hidrolizado o sea un 3,60 % de proteína "bruta", da un aumento de litraje que, a "prima-facie", no está de acuerdo con la proteína ingerida. Puede entenderse que el ácido láctico que tiene un valor alimenticio casi tan grande como la glucosa (1), mejore la condición general del animal (22) y que el ácido acético (ambos presentes en el hidrolizado final) sea un precursor directo de la grasa de la leche, según comunica Ronning (26), lo que explicaría el aumento anotado de la grasa butirométrica; pero tan bajo nivel de proteína "bruta" no puede explicar el mejoramiento general del animal, aumento de la producción láctea, prolongación del ordeño y mejoramiento de las pariciones, como se comprueba con la administración de hidrolizado a la vaca en gestación.

En el caso de los lanares, un 20 % de bioproteocatenolizado, o sea un 3,60 % de proteína "bruta", dan resultados que están en desacuerdo con lo afirmado por De Cuenca (17) en el sentido que las raciones extremadamente ricas en energía, pero sobre todo en proteínas, incrementan el rendimiento de la lana pero disminuye su finura, mientras que con el hidrolizado, fuera del aumento del peso del vellón, la finura es una de las características que sobresalen.

Lógico es pensar que siendo el pescado la materia prima y por ende rica en aminoácidos sulfurados, el ovino la aprovecha al máximo, para cubrir según De Cuenca (17), la avidez del folículo de la lana frente a las proteínas y colme así la producción de lanas, el déficit de hiponutrición carencial, particularmente cualitativo en lo referente a los diferentes aminoácidos esenciales o limitantes para ella.

Surgen de las consideraciones efectuadas, una serie de interrogantes sobre la eficiencia del bioproteocatenolizado en la nutrición animal.

Es necesaria una investigación más profunda en la génesis de los aminoácidos y en su identificación, así como también en la interrelación con otros elementos. Es necesario replantear algunos conocimientos en nutrición animal o reevaluarlos para iniciar un nuevo camino, pues en los presentes momentos no estamos capacitados para medir la energía metabolizante de los aminoácidos liberados del gran edificio proteico, al desconocer hasta qué grado se agrupan entre los conocidos, cómo están biocorrelacionados o si manifiestan juntos o separados respuestas orgánicas hasta ahora no conocidas o evaluadas.

Conocemos a través del trabajo experimental la efectividad del bioproteocatenolizado, pero desconocemos su real y verdadero mecanismo de acción.

Sólo podemos afirmar en los presentes momentos que es útil, pero no podemos decir porqué es útil.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1) Se hace una puesta al día de los procedimientos de hidrólisis biológica de proteínas de origen animal, por medio de bacterias o levaduras.

2) Se comparan los resultados obtenidos en alimentación animal, con las distintas técnicas, estableciéndose las diferencias que surgen de dichas comparaciones.

3) El hidrolizado o *bioproteocatenolizado* de pescado por medio de levaduras proteolíticas, es estudiado en particular, comunicándose los resultados obtenidos.

4) Dichos resultados son alentadores, desconociéndose hasta el presente, el mecanismo que interviene en la eficiencia que, como sustancia proteica de origen animal presenta dicho producto en la alimentación de los animales domésticos.

CONCLUSIONS

1) The author makes an up-to-date review of biological hydrolysis procedures by means of bacterias and yeasts.

2) The results obtained in animal feeding with the different products, are compared remarking the differences that appears in such comparision.

3) The fish hydrolysate or fish *bio-proteo-catenolysate*, by means of proteolytic yeasts is particularly studied, giving the results obtained.

4) Such results are promising, being imposible to determine at the present moment, the mechanism of its efficiency, as a proteic substance of animal origin, in the feeding of domestic animals.

BIBLIOGRAFIA

1. BARNETT, A. J. G.—*Fermentación del ensilado*, 1 vol. Ed. Aguilar, Madrid, 1957.
2. BERTULLO, V. H. y PEREZ HETTICH, F.—El ensilado de pescado. Un nuevo alimento en el Uruguay. *An. Fac. Vet. Montevideo*, VI (4): 141-150; 1956.
3. -----.—Utilización integral de carne y visceras de caballo (*Ecus caballus*) mediante *Saccharomyces platensis proteolytica* n. sp. *An. Fac. Vet. Montevideo*, VIII (6): 133-137; 1957.
4. -----.—El ensilado de pescado en la nutrición animal. II S.E.N.A. (Semana de Estudios de Nutrición Animal). Valladolid, España, 309-312; 1959.
5. BERTULLO, V. H.—Presente y futuro del ensilado de pescado. *Industrias Pesqueras*, Nº 733-794, año XXXIV (ed. extr.): 188-189; 1960.
6. BERTULLO, V. H. y PEREZ HETTICH, F.—El ensilado de pescado en la Avicultura. III S.E.N.A., Santander, España, 291-292; 1960.
7. BERTULLO, V. H.—Hidrólisis o bioproteocatenólisis de carne de ballena por medio de una levadura proteolítica. *Rev. Inst. Invest. Pesq. Fac. Vet. Montevideo*, 1 (1): 7-12; 1962
8. -----.—El hidrolizado de pescado en la nutrición de conejos de pelo. (Trabajo sin publicar.)
9. -----.—El hidrolizado de pescado en la producción de lanas. (Trabajo sin publicar.)
10. BOGE, G.—Amino-acid composition of herring and herring meal and the effect of processing on amino-acids. *Jour. Sc. & Food Agric.*, 11 (7): 362-370; 1960.
11. CARDA APARICI, P. y BARRO SANTOS, G.—Hidrolizados de pescado en la nutrición de los polluelos. *Granja*, Nro. extr., 23-28; 1960.
12. CARL, L. K.—Method for the preservation of a feeding stuff. *Sol. Patente Danesa*, Nº 3415, 50; 1952.
13. CORTNER, R. A.—*Outlines of Biochemistry*, 1 vol. Wiley & Co., N. Y., 1929.
14. CREAC'H, P. V.—Role des farines de poissons dans l'Alimentation du betail. *Congres des Peches et Pecheries dans l'Union Française d'Outre-mer*, 298-307; 1950.
15. DEAS, C. P. y TARR, H. D. A.—Amino-acid composition of fishery products. *Jour. Fish. Res. Bd. Can.*, 7 (9): 513-521; 1949.

16. DE CUENCA, C. L.— La alimentación del ganado ovino. *II S. E. N. A.*, 33-53; 1959.
17. - - - - -.— El nitrógeno en la producción del ganado ovino. *III S. E. N. A.*, Memoria, 1-10; 1960.
18. HALL, L. A. y SAIR, L.— *Production of protein hydrolysate*. U. S. A. Patent Nº 2, 536, 171; 1951.
19. HALMAN, E. T.; MOSKOWITS, I. y THELKELD, T.— Los problemas de la alimentación animal en Europa. Colección F. A. O. *Cuaderno de Fomento Agropecuario* Nº 51. Publicación de la Federación Europea de Zootecnia Nº 3. F. A. O., Roma, 1957.
20. JACQUOT, R. y CREAC'H, P. V.— Les protides du poisson, et leur valeur alimentaire. *Of. Sc. Tech. Peches Marit. Notes et Rapports (Nouvelle Serie)*, Nº 6, 1950.
21. JIMENEZ CURBELO, S. y RODRIGUEZ MARTINEZ, J.— Un producto obtenido por fermentación microbiana del pescado fresco como única fuente proteica animal de las raciones de los animales domésticos. *Granja*, VIII (9): 5-8; 1960.
22. KIRSCH y HILDEBRAND citados por WATSON, S. J. en *Science and Practice of Conservation: Grass and Forage Crops*, 2 vol. Londres, 1939.
23. KRISHNA PILLAI, V. A.— A Fermentation process for the production of quality fish meal. *Curr. Sc.*, 25: 293-294; 1956.
24. LEE, C. F.— Preparation of a dry product from condensed menhaden products. *Research Report* Nº 45. U. S. Fish & Wildlife Service, 1956.
25. LOVERN, J. A.— The utilization of surplus herring for the production of oil and a protein feeding stuff by the process of alkali digestion. *J. Sci. Food Agr.*, 3: 274-278; 1952.
26. RONNING, M.— Pelleted hay for dairy cattle. *Feedstuffs*, 32 (23): 38-42; 1960.