



---

**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS “ESPE”  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y AGRICULTURA**

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

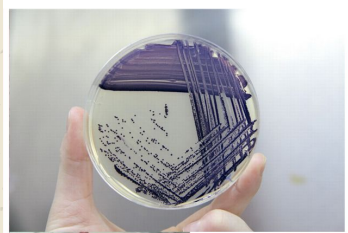
**“Obtención y caracterización de pigmentos microbianos del género *Monascus spp*, a partir del ensilaje de maíz, considerando diferentes medios de cultivo para su aplicación en la industria de fibras vegetales”**

Autora: Ramirez Oña, Genecys Jazmin

Tutor: Neira Mosquera, Juan Alejandro PhD.

---

# Introducción



Los pigmentos naturales se obtienen principalmente de plantas, tejidos de insectos y microorganismos, como bacterias, levaduras, algas, actinomicetos y hongos filamentosos



El uso de subproductos agrícolas como sustrato para una fermentación en estado sólido se ha convertido en una alternativa para reducir costos de producción.

Mayor rendimiento de pigmentación en alimentos, fibras de origen natural y telas, reduce los efectos toxicológicos que son provocados por pigmentos químicos.

Género *Monascus*

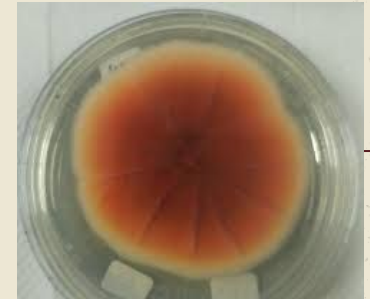


Contenido de almidón y azúcares como monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos

angkak



*Monascus purpureus* es la especie más común.



---

# Objetivos

## Objetivo general

Obtener y caracterizar pigmentos microbianos del género *Monascus spp*, a partir del ensilaje de maíz, considerando diferentes medios de cultivo para su aplicación en la industria de fibras vegetales.

## Objetivos específicos

Aislar e identificar hongos del género *Monascus spp* presentes en el ensilaje de maíz.

Evaluar el efecto del tipo de medio de cultivo en la velocidad de crecimiento radial y la producción de pigmentos por el hongo *Monascus spp*.

Determinar la producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos (salvado de trigo, salvado de avena y cascarilla de arroz) por medio de una fermentación sólida.

Aplicar los pigmentos microbianos a fibras vegetales (Piña y Abacá).

---

---

# Hipótesis

Ho: El tipo de medio de cultivo no influye en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de pigmentos del hongo de género *Monascus spp.*

Ha: El tipo de medio de cultivo influye en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de pigmentos del hongo de género *Monascus spp.*

## Factor A (concentración del inóculo)

Ho: La concentración del inóculo no influye en la producción de pigmento del hongo de género *Monascus spp.*

Ha: La concentración del inóculo influye en la producción de pigmento del hongo de género *Monascus spp.*

## Factor B (sustratos)

Ho: El tipo de sustrato aplicado en la fermentación sólida no influye en la producción de pigmento del hongo de género *Monascus spp.*

Ha: El tipo de sustrato aplicado en la fermentación sólida influye en la producción de pigmento del hongo de género *Monascus spp.*



# Metodología

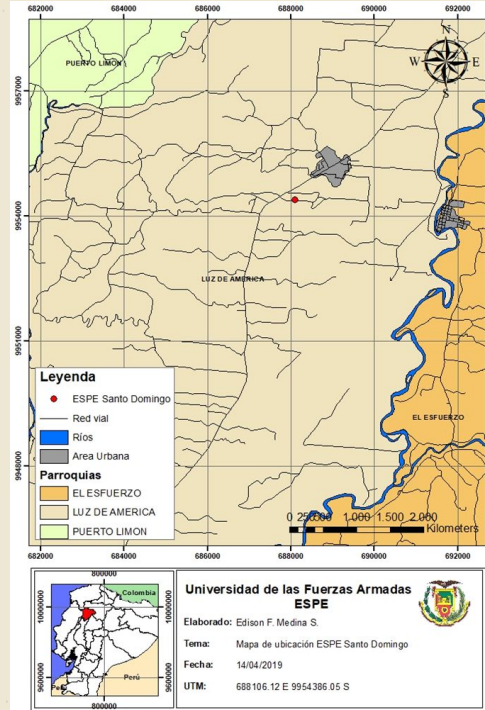
## Ubicación del área de investigación

### Ubicación política

País: Ecuador  
Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas  
Cantón: Santo Domingo  
Parroquia: Luz de América  
Sector: Km 24 Vía Quevedo

### Ubicación ecológica

Zona de vida: Bosque húmedo tropical  
Altitud: 224 msnm  
Temperatura media: 24.6 °C  
Precipitación: 2860 mm/año  
Humedad relativa: 85%  
Heliofanía: 680 horas luz/año  
Suelos: Franco arenoso



---

# Metodología

Evaluación del efecto del tipo de medio de cultivo en la velocidad de crecimiento radial y la producción de pigmentos por el hongo *Monascus spp*

## Diseño experimental

Tratamientos	Combinaciones
PDA	PDA * <i>Monascus purpureus</i>
PDA + Naranja	PDA + Naranja * <i>Monascus purpureus</i>
PDA + Mandarina	PDA + Mandarina * <i>Monascus purpureus</i>

### Tipo de diseño

Se aplicó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con 3 tratamientos y 8 repeticiones, con un total de 24 unidades experimentales

Las variables fueron la velocidad de crecimiento radial y cuantificación de pigmentos en medida de la absorbancia

---

---

# Metodología

Determinación de la producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos por medio de una fermentación sólida.

## Diseño experimental

Factores y niveles del experimento

Factores	Simbología	Niveles
Concentración del inóculo (A)	a0	$3 \times 10^4$
	a1	$2,3 \times 10^6$
Sustrato (B)	b0	Cascarilla de arroz
	b1	Salvado de trigo
	b2	Salvado de avena

### Tipo de diseño

Se aplicó un Diseño factorial AxB (2x3), con un total de 6 tratamientos y 4 repeticiones, dando un total de 36 unidades experimentales.

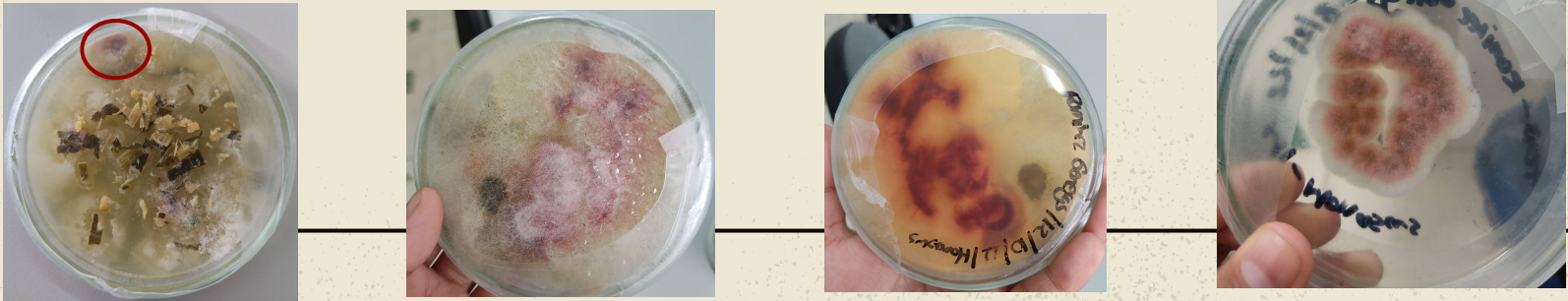
# Metodología

Aislamiento e identificación de hongos del género *Monascus* spp en el ensilaje de maíz

## Preparación y siembra de la muestra



## Aislamiento de la cepa



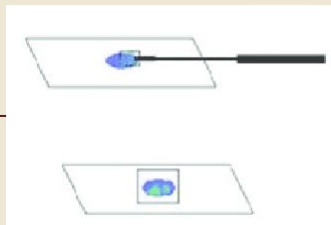
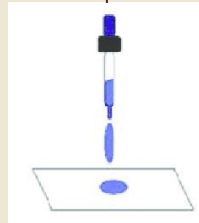
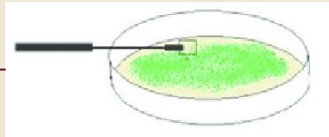
# Metodología

Aislamiento e identificación de hongos del género *Monascus spp* en el ensilaje de maíz

## Identificación morfológica

## Secuenciación y análisis filogenético

Cinta adhesiva



Web BLAST





# Metodología

Evaluación del efecto del tipo de medio de cultivo en la velocidad de crecimiento radial y la producción de pigmentos por el hongo *Monascus spp*

## Preparación de medios de cultivo

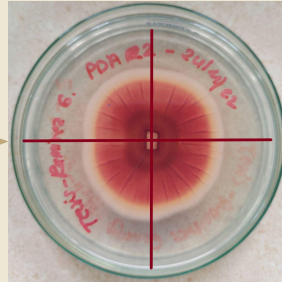
Se lavó y desinfectó cada muestra

Se llevó a hervir por 30 minutos

Se tamizó y enfrió a temperatura ambiente

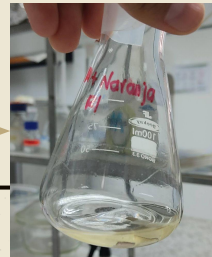
Se agregó PDA para la elaboración de los medios

## Determinación de la velocidad de crecimiento radial



Se realizó una relación entre el crecimiento y el tiempo de medición

## Extracción de pigmentos

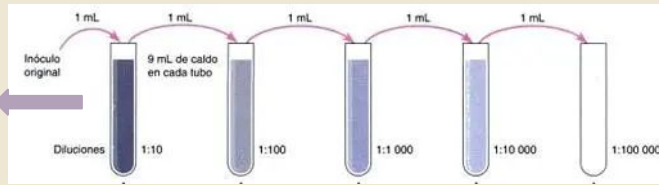


# Metodología

## Producción de pigmentos microbianos en fermentación sólida

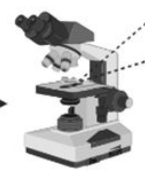
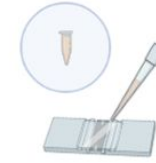
### Preparación del inóculo

Solución de Tween al 0.1% con un disco de agar de 5 mm de la cepa



Conteo de conidios

Hemocitómetro



Conidios



### Preparación del sustrato

Se seleccionó la cascarilla de arroz, salvado de trigo y salvado de avena

Trituración de la muestra

Tamizado

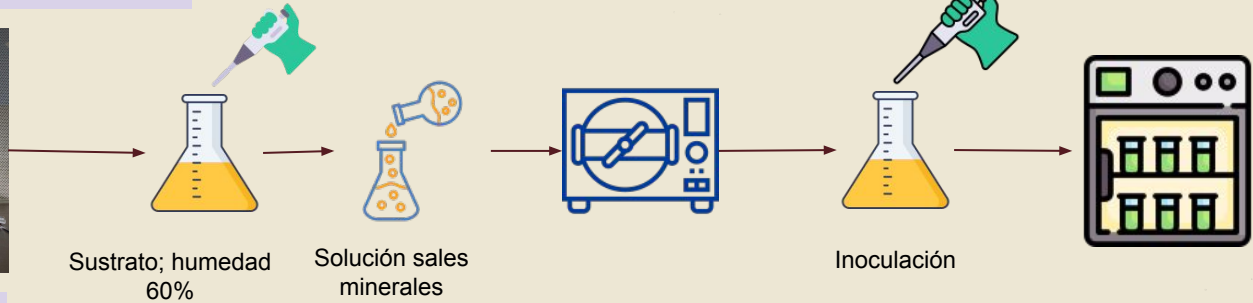
Almacenamiento

Tamaño de partícula de 0,3 a 0,5 mm

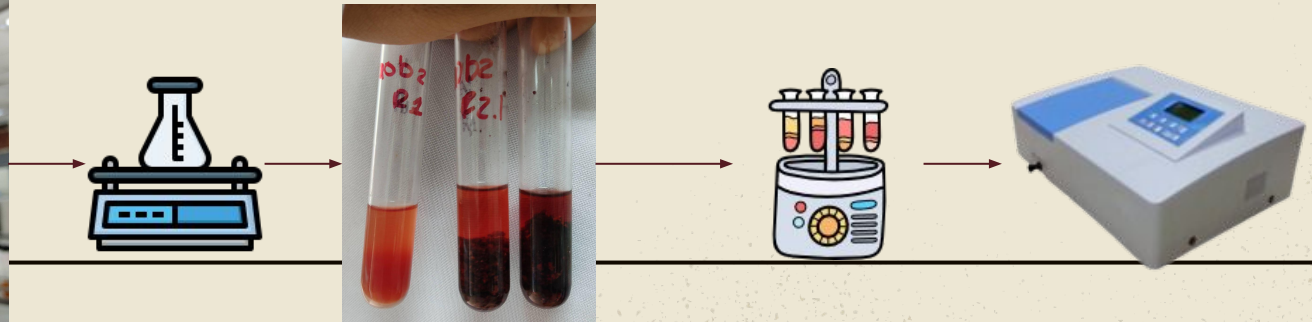
# Metodología

Producción de pigmentos microbianos en fermentación sólida

## Elaboración de la fermentación sólida



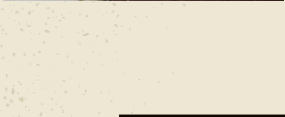
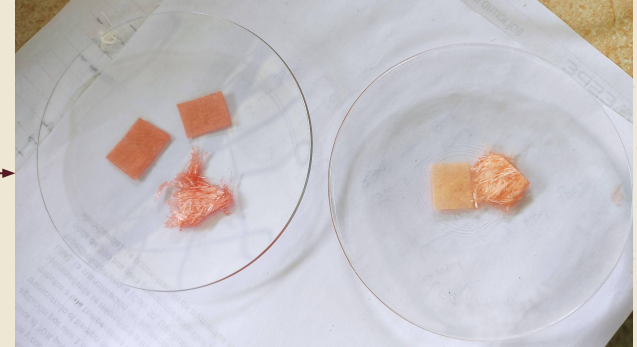
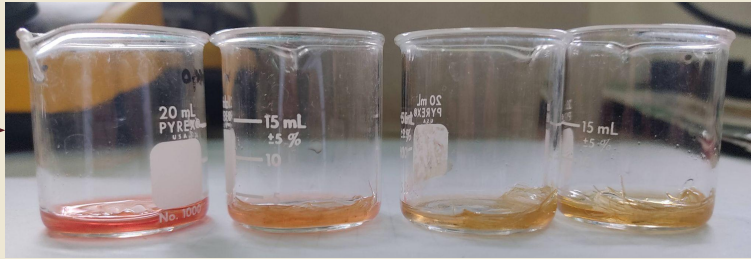
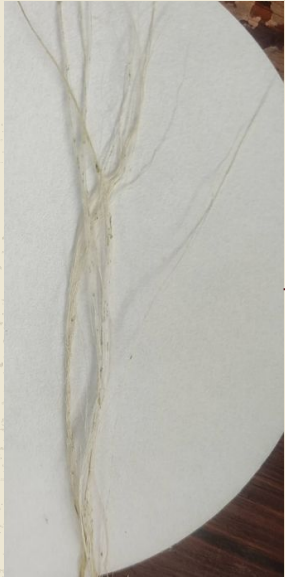
## Extracción de pigmentos



---

# Metodología

Aplicación de los pigmentos microbianos a fibras vegetales (piña y abacá)



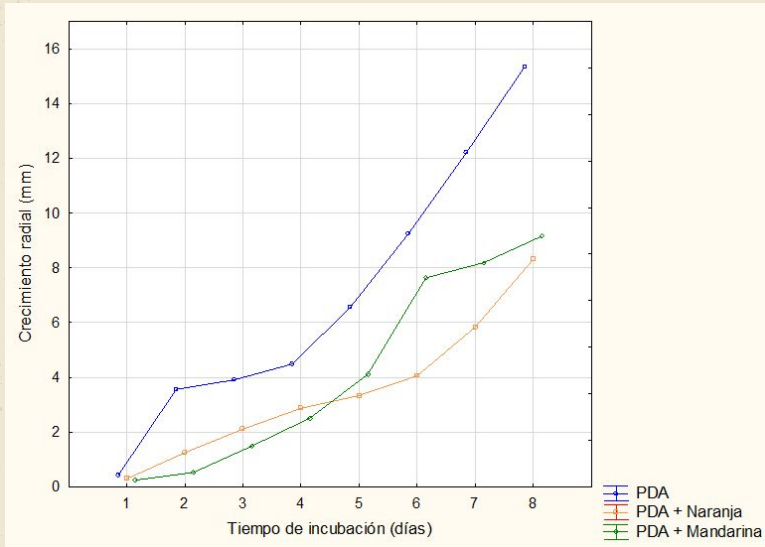




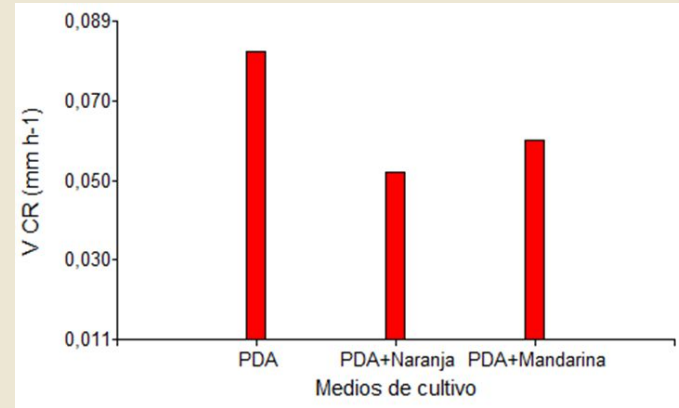


# Resultados y discusión

De la evaluación del efecto del tipo de medio de cultivo en la velocidad de crecimiento radial



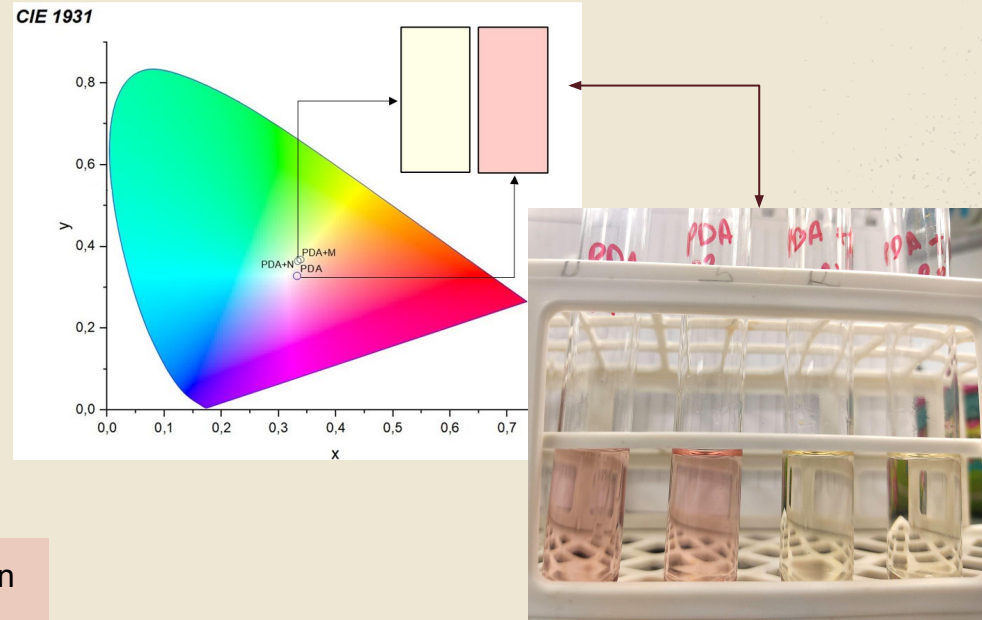
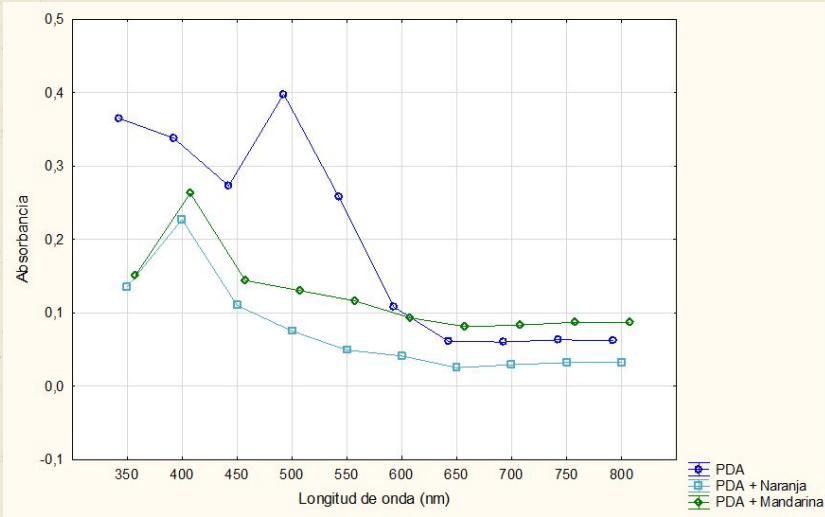
Mayor crecimiento en el medio PDA, con un total de 15,35 mm por 192 h, con una velocidad de crecimiento radial de 0,086 mm h<sup>-1</sup>, este resultado difiere con lo reportado por Carvalho J. et al. (2006).



Ajdari et al. (2011), menciona que el crecimiento del microorganismo es dependiente de la cepa, de las condiciones tanto fisicoquímicas como nutritivas del medio de cultivo y del tiempo de incubación.

# Resultados y discusión

De la evaluación del efecto del tipo de medio de cultivo en la producción de pigmentos por el hongo *Monascus spp.*



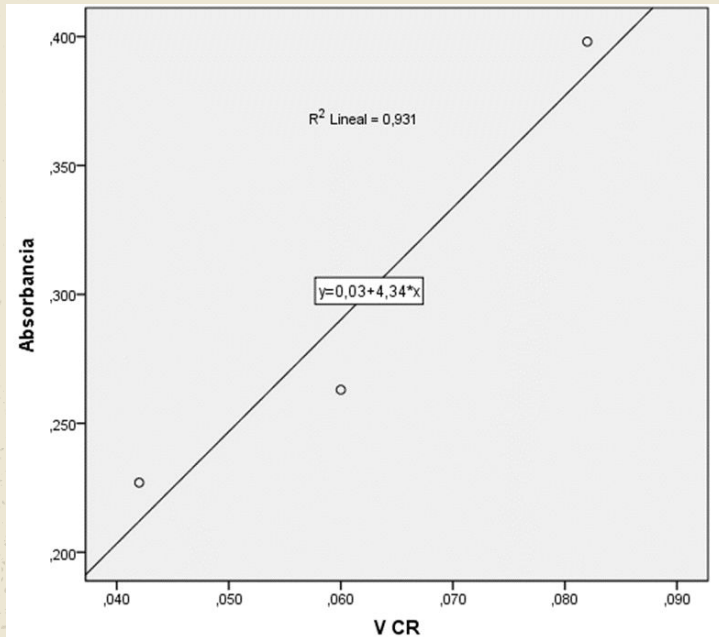
Domínguez et al. (2002), mencionan que en *Monascus* surgen pigmentos amarillos-naranjas a 405 nm y pigmentos rojos a 495 nm.

Velmurugan et al. (2010) mencionan que el rendimiento de color aumenta con el período de incubación.

---

# Resultados y discusión

De la evaluación del efecto del tipo de medio de cultivo en la producción de pigmentos por el hongo *Monascus spp.*



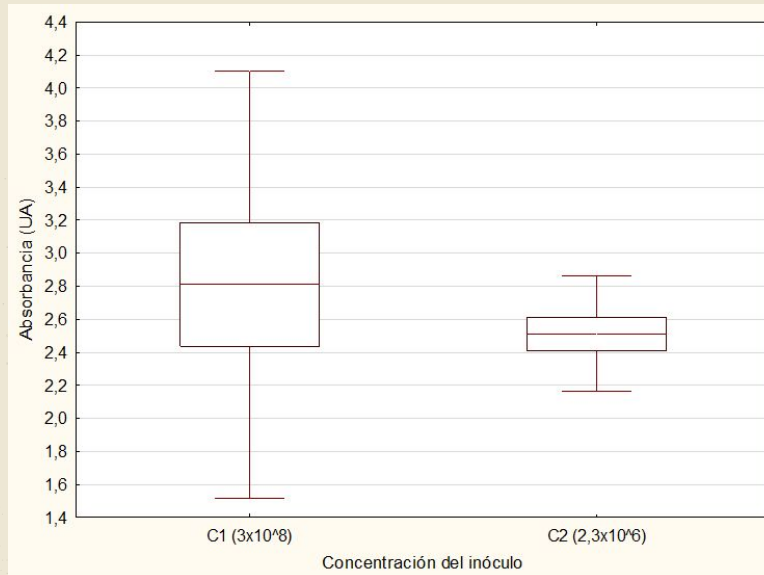
Se puede decir que la absorbancia se comporta en función de la velocidad de crecimiento radial

---

# Resultados y discusión

La producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos por medio de una fermentación sólida.

## Factor A

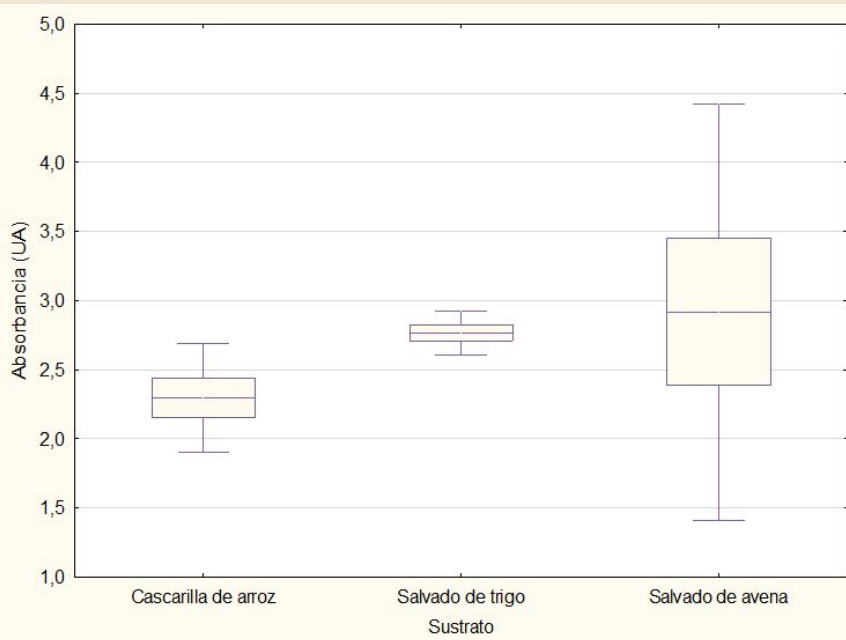


No se encontró diferencia en las medias, estos resultados se acogen al estudio de Velázquez Arellano (2014), quien utilizó una concentración de  $1 \times 10^4$  esporas/ml de *M. purpureus*, mientras que El-Sayed et al. (2022) emplearon una concentración de  $1,5 \times 10^6$  de *M. ruber*.

# Resultados y discusión

La producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos por medio de una fermentación sólida.

## Factor B



La humedad del sustrato se relaciona con el rendimiento en la producción de pigmentos (Babitha et al., 2007)

Otro factor influyente en la producción de pigmentos es el tamaño de partícula (Díaz, 2009).

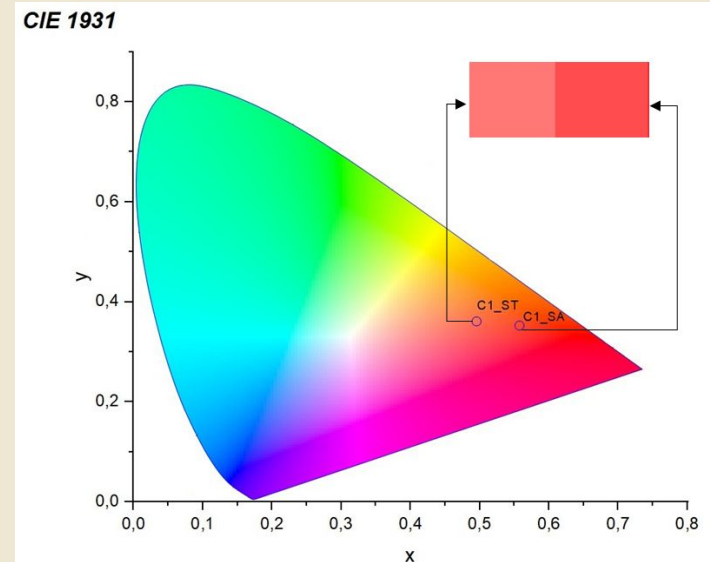
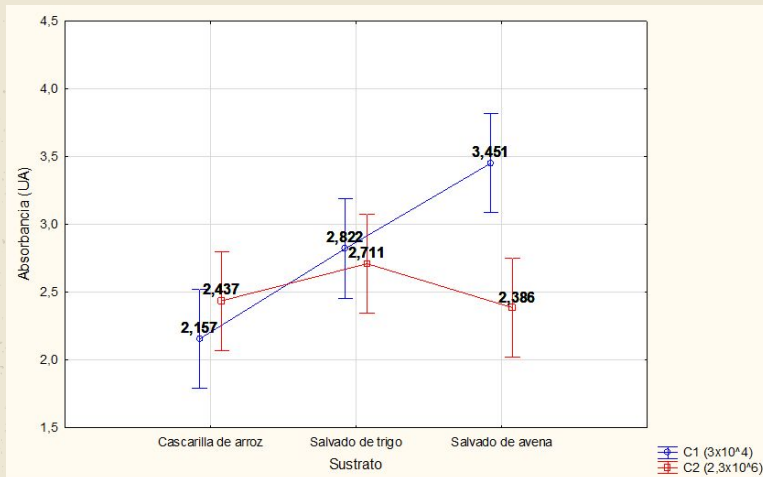
Hasta ahora no se ha reportado el uso de salvado de avena como sustrato para la producción de pigmentos; a pesar de ser rica en carbohidratos, proteínas y oligoelementos



# Resultados y discusión

La producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos por medio de una fermentación sólida.

## Interacción concentración del inóculo\*sustrato (A\*B)

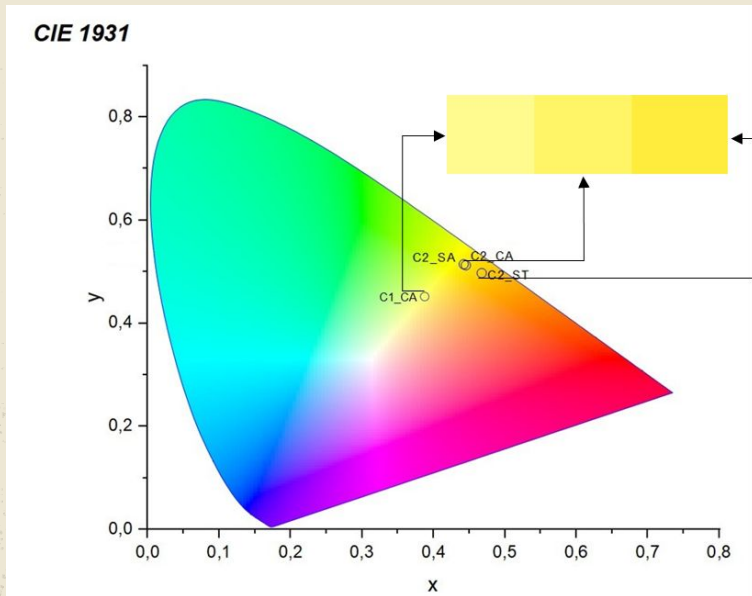


La concentración del inóculo se encuentra en el rango ( $10^4 \times 10^6$  esporas/m) reportado por Pawanjot, (2018); el tamaño de las partículas fueron favorables para el crecimiento del hongo. El porcentaje de humedad es esencial para el crecimiento de hongos y, posteriormente para la producción de metabolitos (Yongsmith et al., 2000).

# Resultados y discusión

La producción de pigmentos microbianos por el hongo de género *Monascus spp*, empleando distintos tipos de sustratos por medio de una fermentación sólida.

Interacción concentración del inóculo\*sustrato (A\*B)



El uso de residuos agroindustriales como sustratos en fermentación sólida ayuda a la producción de pigmentos (Pandey A. , 2003).

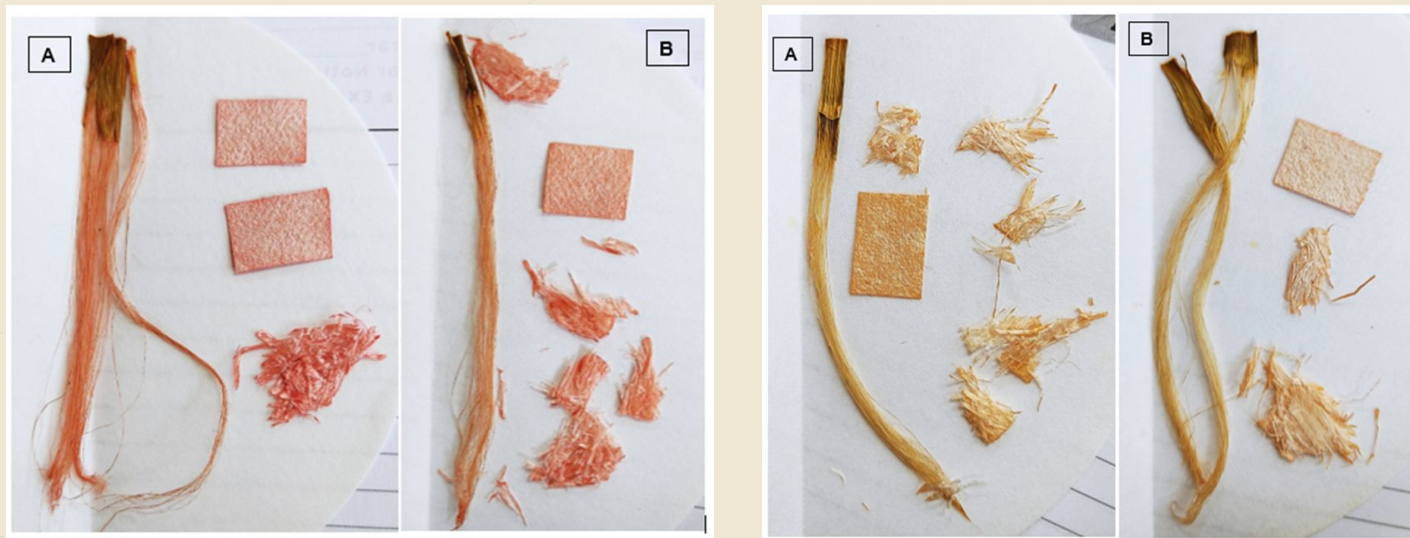
El-Sayed et al. (2022) mencionan que, la fuente de carbono, fósforo, nitrógeno y potasio son elementos que tienen efecto en la producción de pigmentos en *M. purpureus*.

El rendimiento y tono de los pigmentos también es influenciado por el tipo de cepa, perfil metabólico y métodos de cultivo (Carvalho J. et al., 2006).

---

# Resultados y discusión

Aplicación de los pigmentos microbianos a fibras vegetales (piña y abacá)



Carreño et al. (2021) reportan que se obtienen coloraciones claras en fibras vegetales con pigmentos microbianos en comparación a la fibra animal que presenta tonalidades con mayor intensidad.

---

---

# Conclusiones

Se determinó que el hongo aislado a partir del ensilaje de maíz, corresponde a la familia Monascaceae, género *Monascus*, específicamente a la especie *Monascus purpureus*, el cual es la especie más común de este género.

Se determinó que el tipo de medio de cultivo influye en la velocidad de crecimiento radial, siendo el medio PDA el cual presentó mayor crecimiento la cepa de *M. purpureus*, con una velocidad de crecimiento radial de 0,086 mm h<sup>-1</sup>.

Se determinó que el tipo de medio de cultivo influye en la producción de pigmentos; se encontró mayor producción de pigmentos rojos en medio PDA con una absorbancia de 0,396 a 495 nm; y mayor producción de pigmentos amarillos en el medio PDA+Mandarina con un valor de 0,262 a 405 nm.

Se determinó que a partir de la absorbancia se puede calcular la velocidad de crecimiento radial, debido a la correlación que existe entre ambas variables.

Se determinó que la concentración del inóculo no influye en la producción de pigmento, ya que, las concentraciones aplicadas de  $3 \times 10^4$  y  $2,3 \times 10^6$ , se encuentran en el rango reportado por la bibliografía.

Se determinó que el tipo de sustrato aplicado en la fermentación sólida influye en la producción de pigmento del hongo de género *Monascus* spp, siendo el salvado de avena (2,92) el que tuvo mayor producción de pigmentos rojos y el salvado de trigo (2,77) en pigmentos amarillos, a su vez, se concluye que el tamaño de la partícula (0,3 a 0,5 mm) y la humedad (60%) del sustrato son factores a considerar en la producción de pigmentos.

---

# Recomendaciones

Se recomienda emplear el medio de cultivo PDA para la obtención de pigmentos rojos, a su vez, se debe tener en cuenta los parámetros de pH en un rango de 4 a 7 y el tiempo de incubación hasta 14 días en la producción de pigmentos, ya que estos pueden influir en el cambio de color y en su rendimiento

Se recomienda aplicar una concentración de  $10^4$  a  $10^6$  del inóculo, para obtener tanto pigmentos rojos como amarillos, ya que si se aplica una cantidad mayor de inóculo la productividad del pigmento disminuye.

Se recomienda emplear salvado de avena y salvado de trigo para la producción de pigmentos rojos y amarillos, considerando un tamaño de partícula pequeño, de aproximadamente 0,3 mm a 0,5 mm.

Se recomienda aplicar una humedad del 60%, a una temperatura de 30°C por un periodo de incubación hasta los 14 días.

Se recomienda usar los resultados de absorbancia para el cálculo de la velocidad de crecimiento radial, ya que, la absorbancia se comporta en función de la velocidad de crecimiento radial.

Se recomienda aplicar los pigmentos producidos por *M. purpureus* en fibras vegetales de piña y abacá como una alternativa al uso de pigmentos sintéticos



---

Gracias

---