



PRODUCCIÓN DE PROTEASAS POR *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042

Mariana Contreras-Cruz, Israel García-Cano, Amelia Farrés, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química, Depto. Alimentos y Biotecnología. Ciudad Universitaria, D.F., México. 04510. farres@unam.mx

Pediococcus acidilactici, sistema proteolítico, actividad proteolítica.

Introducción. La proteólisis es uno de los cambios bioquímicos más importantes que ocurren durante la fermentación y maduración de productos cárnicos. Durante este proceso se liberan péptidos y aminoácidos libres que contribuyen al desarrollo de aromas y sabores. Este proceso se debe a enzimas endógenas de la carne, como las catepsinas, pero también por proteasas producidas por microorganismos, como las bacterias ácido lácticas. *P. acidilactici* es uno de los cultivos iniciadores más usados en productos cárnicos fermentados y se ha reportado que muestra actividad proteolítica contra proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, sin embargo hasta hoy no existe información suficiente sobre su sistema proteolítico.

El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar las proteasas producidas por diferentes fracciones celulares de *P. acidilactici* ATCC 8042 en medios de cultivo seleccionados, para contribuir a la elucidación de su sistema proteolítico.

Metodología. *P. acidilactici* ATCC 8042 se hizo crecer en medio MRS y CGB por 14 h, se determinó actividad proteolítica de cuatro distintas fracciones por zimografía usando caseína y gelatina como sustratos y por métodos espectrofotométricos contra gelatina, caseína, elastina, colágeno y hemoglobina con la finalidad de evaluar la afinidad por sustrato. Para determinar actividad caseinolítica se realizaron pruebas de difusión en agar utilizando cajas de leche descremada.

Resultados. En medio MRS, a las 14 h de crecimiento, se produce una mayor cantidad de proteasas. Se observaron dos bandas de actividad de 100 y 180 kDa en la fracción de células enteras y una de aproximadamente 100 kDa para restos celulares. La banda de 100 kDa mostró actividad en gel contra caseína. En la fracción citosólica se encontró una banda de 180 kDa con actividad contra gelatina.

La actividad mas baja se cuantificó espectrofotométricamente en la fracción citosólica, mientras que la mas alta se presentó en los restos celulares y la fracción extracelular, a excepción de la hemoglobina (Fig. 1). En la figura 2 se muestran los halos de hidrólisis que produce el sobrenadante en diferentes concentraciones en cajas de leche descremada.

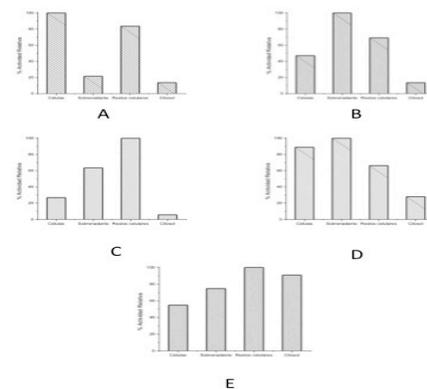


Fig. 1 Actividad proteolítica relativa para 4 fracciones (células enteras, sobrenadante, restos celulares, citosol). A Gelatina, B Caseína, C Elastina, D Colágeno y E Hemoglobina.

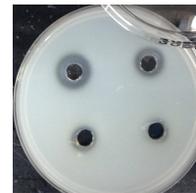


Fig 2. Halos de hidrólisis en cajas de leche descremada para la fracción extracelular en diferentes concentraciones.

Conclusiones. A las 14 h de crecimiento, en el inicio de la fase estacionaria, cuando existe una restricción de nutrientes y la bacteria se somete a un estado de estrés, *P. acidilactici* incrementa la producción de proteasas.

En la muestra correspondiente a células enteras se encuentra el mayor número de enzimas con actividad proteolítica, que generan péptidos grandes (datos no mostrados). La fracción citosólica muestra poca actividad. Esto concuerda con lo observado en otros sistemas proteolíticos de bacterias ácido lácticas, en los cuales es necesario degradar los polipéptidos de mayor tamaño por medio de proteasas extracelulares y adheridas a pared celular para introducirlos a la célula y en el interior poder degradarlos hasta dipéptidos, tripéptidos y aminoácidos para su asimilación.

Agradecimiento. A Conacyt por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Bibliografía.

- 1.- Benito M, Rodríguez M., Martín A., Aranda E., Córdoba J. *Meat Sci* (2004).67 497-505.
- 2.- Benito M., Martín A., Aranda E., Pérez-Nevado F., Ruiz-Moyano S., Córdoba M. *J. Food Sci.*(2007). 72 93-201.