



## EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE EXTRACTOS FÚNGICOS PROTEOLÍTICOS EN PRESENCIA DE DETERGENTES BIOLÓGICOS COMERCIALES

Reyes Arreozola M.I.<sup>c</sup>, Aguilar C.N.<sup>a</sup>, Rojo Domínguez A.<sup>b</sup>, Huerta Ochoa S.<sup>c</sup>, Buenrostro Figueroa J.<sup>c</sup>, Prado Barragán L.A.<sup>c</sup>. <sup>a</sup>Universidad Autónoma de Coahuila. <sup>b</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. <sup>c</sup>Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina, Iztapalapa, México, D.F. C.P. 09340. \*[lapb@xanum.uam.mx](mailto:lapb@xanum.uam.mx)

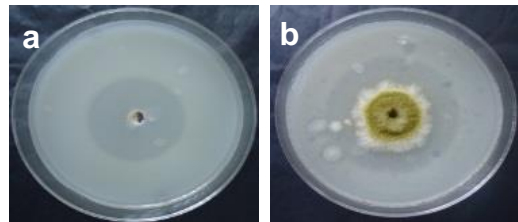
*Palabras clave: proteasas, detergente biológico, cepas fúngicas.*

**Introducción.** Las proteasas son componente esencial en los detergentes de lavandería modernos. Una proteasa para poder ser añadida a un detergente debe poseer un rendimiento eficiente de lavado en un amplio pH alcalino y rango de temperaturas<sup>4</sup>. Estos catalizadores deben mostrar alta actividad hidrolítica en presencia de agentes de blanqueo, surfactantes, colorantes, etc., presentes en la formulación de detergentes<sup>1</sup>. El objetivo del presente estudio fue evaluar la estabilidad de extractos fúngicos proteolíticos en presencia de los componentes de detergentes biológicos comerciales.

**Metodología.** Se propagaron cepas fúngicas en agar papa dextrosa (30 °C por 7 días). Se inoculó al centro (100 µL, 1x10<sup>6</sup> cel/mL)<sup>3</sup> placas de agar leche descremada (PALD) adicionadas con detergente TIDE<sup>®</sup> (1, 5 y 10 % v/v) previamente sometido a un tratamiento de inactivación enzimática (121 °C, 15 min). Se registró crecimiento radial (CR) y halo de hidrólisis (HH) cada 12 h. Se determinó el índice de potencia (IP) = HH (mm)/CR (mm) y el índice de producción proteolítica (IPP) = velocidad de formación de HH / velocidad de CR. Los resultados se analizaron empleando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2. Los factores evaluados fueron el detergente (1, 5 y 10 %) y la temperatura (30 y 45 °C). Los datos se analizaron mediante un ANOVA empelando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (versión 16.0) y las medias fueron comparadas por Tukey's (α=0.05).

**Resultados.** La Fig. 1 muestra la típica zona traslúcida ocasionada por la hidrólisis relacionada con la cantidad de proteasa producida por el m.o.<sup>2</sup>. Un parámetro que indica si la producción de enzimas están o no asociadas al crecimiento es el IPP. La tabla 1 muestra el efecto cambiando de la temperatura y concentración de detergente sobre el IPP. Un valor menor de IPP es indicativo de que la actividad enzimática no está asociada al crecimiento<sup>2</sup>. El mayor IPP (24.57) lo produjo *A. flavus* a 30 °C y 5 % de detergente, sin embargo no creció a 45 °C. En contraste *Y. lipolytica* crece y produce proteasas a ambas temperaturas, presentando un incremento de actividad del 24.45 % a 45 °C y 10 % de detergente. La temperatura es un factor importante para el crecimiento, solo 3 de las nueve cepas crecieron y

presentaron actividad proteolítica a 45 °C a las 3 concentraciones de detergente probadas.



**Figura 1.** Crecimiento radial y halo de hidrólisis.

Para que un extracto enzimático pueda ser utilizado en detergentes, es necesario que presente estabilidad a temperaturas de lavandería doméstica (45 °C) y en presencia de los componentes de la fórmula.

**Tabla 1.** Efecto de la concentración de detergente y temperatura sobre el IPP.

| Cepas   | 30 °C                   |                          |                          | 45 °C                   |                         |                         |
|---|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|   | Detergente              |                          |                          |                         |                         |                         |
|   | 1                       | 5                        | 10                       | 1                       | 5                       | 10                      |
| <i>Aspergillus flavus</i> MIAE01297           | 1.52 <sup>b,c</sup>     | 19.37 <sup>b</sup>       | 3.47 <sup>b</sup>        | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| <b>b) <i>Aspergillus flavus</i> MIAE01259</b> | 2.25 <sup>b</sup>       | <b>24.57<sup>a</sup></b> | <b>16.34<sup>a</sup></b> | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| <i>Rhizomucor variabilis</i>                  | 0.12 <sup>c</sup>       | 1.65 <sup>a</sup>        | 1.00 <sup>b</sup>        | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| <i>Aspergillus niger</i>                      | 1.07 <sup>b,c</sup>     | 5.62 <sup>c,d</sup>      | 0.67 <sup>b</sup>        | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| <i>Penicillium polonicum</i> 188P             | 1.17 <sup>b,c</sup>     | 1.10 <sup>d,e</sup>      | N.C                      | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| Mol 2   | 1.42 <sup>b,c</sup>     | 1.13 <sup>a</sup>        | 0.33 <sup>b</sup>        | N.C                     | N.C                     | N.C                     |
| <b>a) <i>Yarrowia lipolytica</i></b>          | <b>4.98<sup>a</sup></b> | 5.75 <sup>c</sup>        | 3.67 <sup>b</sup>        | <b>3.45<sup>a</sup></b> | <b>5.16<sup>a</sup></b> | <b>4.58<sup>a</sup></b> |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>                  | 2.36 <sup>b</sup>       | 2.29 <sup>d,e</sup>      | 1.1 <sup>b</sup>         | <b>4.27<sup>a</sup></b> | 2.08 <sup>b</sup>       | 1.33 <sup>b</sup>       |
| <i>Aspergillus lanosus</i>                    | 1.55 <sup>b,c</sup>     | 3.53 <sup>c,d,e</sup>    | 3.27 <sup>b</sup>        | 2.50 <sup>a,b</sup>     | 1.16 <sup>c</sup>       | 1.33 <sup>b</sup>       |

<sup>a</sup>No existen diferencias significativas entre las mismas letras. N.C.= Sin crecimiento

**Conclusiones.** Los extractos proteolíticos producidos por *Y. lipolytica* presentan actividad y estabilidad hidrolítica en presencia de componentes típicamente utilizados en detergentes biológicos y a temperaturas empleadas en lavandería doméstica, lo cual indica su idoneidad en proceso de producción de proteasas con aplicación en detergentes.

**Agradecimientos.** I. Reyes agradece la beca de posgrado de CONACYT (374376) y al proyecto TRANSBIO (FP7/2007-2013 No.289603) por el apoyo otorgado para la realización del proyecto.

### Bibliografía.

- Rähse, W. (2014). *ChemBioEng Reviews*, 1, 27-39.
- Vermelho, A. B., Meirelles, M. N. L., Lopes, A., Petinate, S. D. G., Chaia, A. A. and Branquinha, M. H. (1996). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91, 755-760.
- Vijayaraghavan, P. and Vincent, S. G. P. (2013). *J. Biochem Tech*, 4, 628-630.
- Vojcic, L., Pitzler, C., Körfer, G., Jakob, F., Ronny, M., Maurer, K.-H. and Schwaneberg, U. (2015). *New Biotechnology*.