



EFFECTO DE LAS CONDICIONES PARA CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD QUITINOLÍTICA PRODUCIDA POR LA BACTERIA HALÓFILA MODERADA TEL-II 37.

Silvia A. Moreno-Mendieta, Rodrigo A. Rivera-Solís, Sara E. Solís-Pereira,
Alicia Cardos-Vidal y Gerardo Rivera-Muñoz
Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica del Instituto Tecnológico de Mérida
Km. 5 Carr.Mérida-Progreso S/N, C.P.97118, (999)944-81-22 ext.172
grivera@itmerida.mx

Palabras clave: TEL-II 37, actividad quitinolítica, optimización.

Introducción. Los desechos sólidos de camarón son una fuente importante de compuestos útiles considerados materias renovables con amplio potencial en la industria farmacéutica y alimentaria (1). Una de las estrategias más importantes para el aprovechamiento integral de estos residuos, es utilizar la quitina presente como sustrato de fermentación, para la producción de metabolitos de interés como las enzimas quitinolíticas sintetizadas, entre otros, por microorganismos halófilos de origen marino (2). Dichas enzimas se utilizan cada vez más en biotecnología, sin embargo, el alto costo de su producción, incrementa la necesidad de buscar cepas altamente productoras de la enzima y la optimización de las condiciones de fermentación.

El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones del sistema de ensayo para cuantificar la actividad quitinolítica producida por la cepa halófila moderada TEL-II 37 aislada del Puerto de Telchac en Yucatán, México.

Metodología: La obtención de los inóculos utilizados en los sistemas de fermentación para la producción de las enzimas, se realizó creciendo la cepa a 40°C por 5 días. La fermentación se llevó a cabo en matraces erlenmeyer de 250 mL usando el medio de cultivo reportado por Cody (3) con algunas modificaciones: Quitina coloidal al 1% en base seca, Extracto de Llevadura al 0,05%; NaCl al 3,624%; Glucosa al 0,1%; (NH₄)₂SO₄ al 0,1%; pH 8.0. Se incubó a 40°C y 200 rpm durante 48 h. Los sobrenadantes libres de células fueron usados para evaluar el efecto combinado de la temperatura, pH y molaridad del Buffer Fosfatos de K sobre la actividad quitinolítica determinada en cada caso (4). Para ello se utilizó un Diseño Factorial 3³, cuyos resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para evaluar el efecto individual de cada factor y sus interacciones sobre la variable respuesta (*Y*= actividad quitinolítica expresada en µg NAcGlu/mL). Los resultados obtenidos sirvieron para establecer las nuevas condiciones de pH, Molaridad y temperatura para la determinación de la actividad quitinolítica, bajo las cuales se evaluó el efecto de la concentración de NaCl sobre la actividad de las quitinasas producidas por la cepa TEL-II-37.

Resultados y discusión: En la figura 1 se puede observar que el mayor título de actividad quitinolítica se obtuvo a pH 6.6, 0.04 M y 60°C (398,75 µg/ de NAcGlu/mL).

Cuando se evaluó el efecto de la concentración de NaCl sobre la actividad quitinolítica bajo dichas condiciones, se logró obtener un título de 458.33 µg NAcGlu/mL en el sistema con NaCl al 7%. En el análisis de varianza el pH y temperatura y su interacción muestran un efecto significativo sobre la actividad quitinolítica en un nivel de confianza del 95%. Los títulos altos de actividad logrados a 50°C y pH 7.5, sugieren que puede haber dos o más enzimas en el sistema.

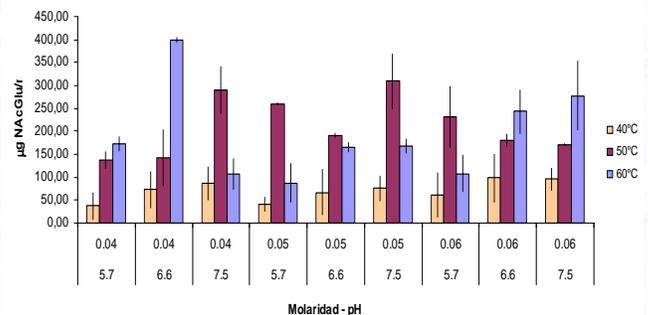


Fig 1. Efecto de la temperatura, pH y molaridad sobre la producción de actividad quitinolítica de la cepa TEL-II 37. Los datos corresponden al promedio de dos experimentos.

Conclusiones: Buffer Fosfatos de K 0.04 M a pH 6.6 y 60°C fue la mejor combinación de factores para cuantificar la actividad quitinolítica producida por la cepa TEL-II-37. Los títulos obtenidos a una temperatura de 60°C aumentan la importancia de esta cepa en la industria de las enzimas termorresistentes.

Bibliografía:

- Cabello, A, Hernández, A, Reyes, E, Cristiano, E, Jiménez, M. (1987). Uso del caparazón de camarón como sustrato de fermentación. *RLM*. 29: 239-244.
- Carroad, P, Raymond, T. (1978). Bioconversion of Shellfish Chitin Wastes: Process Conception and Selection of Microorganisms. *JFS*. 43: 1158-1161.
- Cody, R.M. (1990). Screening microorganisms for chitin hydrolysis and production of ethanol from amino sugars. *Biomasa*. 21: 285-295.
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31 (3): 426-428.