



EFFECTO DE UN ELICITOR EN LA SINTESIS DE PROTEASAS POR CULTIVO CELULAR DE *Jacaratia mexicana* EN UN BIORREACTOR AIRLIFT.

¹Iliana del C. Barrera Martínez, Sergio García Salas, ²Ma.del Carmen Oliver Salvador. Departamento de Bioprocesos, ^{1,2}Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Av. Acueducto s/n Barrio la Laguna Ticoman, México, D. F., C. P. 07340. Fax 5729600 Ext. 56305. Correo electrónico oliveripn@hotmail.com

Palabras clave: enzimas proteolíticas, elicitor, biorreactor airlift.

Introducción. El látex de *Jacaratia mexicana* contiene cantidades apreciables de proteasas, de interés industrial. En estudios anteriores se establecieron condiciones de cultivo de células de *J. mexicana* en un biorreactor airlift, en donde se demostró la producción de enzimas proteolíticas (1). Por otro lado, compuestos de origen fúngico incrementaron la síntesis de peroxidasa en cultivo de células de zanahoria (2). A este efecto se le conoce como elicitación, definida como una respuesta al estrés causado por compuestos químicos o factores físicos que provocan cambios fisiológicos y morfológicos en organismos vivos (3).

El objetivo de este trabajo fue investigar si ocurría un incremento en la síntesis de proteasas, por elicitación, al usar un extracto de *Aspergillus niger* en el cultivo de células de *J. mexicana* en un biorreactor tipo airlift, y determinar las condiciones de operación del biorreactor.

Metodología.

El elicitor se obtuvo de acuerdo a un procedimiento previo (2). El inóculo para el biorreactor airlift se obtuvo a partir de un cultivo de células en suspensión de *J. mexicana* en un matraz con 600 mL de medio Murashige y Skoog, con 0.5 mg/L de 2,4-D; 0.5 mg/L de BAP y 25 mg/L de elicitor. El volumen de trabajo del biorreactor fue de 800 mL, 0.5 vvm de aireación y 25°C. El medio de cultivo fue el mismo utilizado en matraz. Las determinaciones analíticas fueron: actividad proteolítica, por el método de Kunitz; biomasa, por peso seco; sacarosa, por el método de la antrona; proteína, por el método de Bradford. También, en el biorreactor se determinaron el tiempo de mezclado por el método de pulsos y el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno por el método dinámico.

Resultados y discusión.

La actividad proteolítica en el medio del cultivo celular de *J. mexicana* en el biorreactor con un extracto de *A. niger* se presenta en la figura 1. Dicha actividad fue similar a la obtenida en el cultivo en matraz, donde se obtuvo un incremento de 1.3 veces con respecto al control (datos de un trabajo previo). Por lo tanto, el efecto de elicitación sucedió en el cultivo en matraz y en el biorreactor. En el biorreactor el consumo de sacarosa fue de $43.73 \pm 3.26\%$ a siete días de cultivo. La producción de biomasa fue de 12 g/L (peso seco).

Bajo las condiciones de operación del biorreactor airlift, el tiempo de mezclado fue de 40 s. Para el volumen de trabajo de 800 mL, este tiempo es relativamente alto. Sin embargo, debido a la geometría del tubo de arrastre del biorreactor (provisto de 4 horadaciones que comunican la zona de flujo

ascendente con la de flujo descendente), se generan velocidades de líquido que eventualmente podrían dañar a las células.

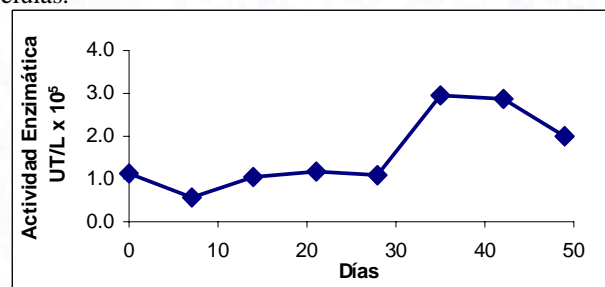


Fig. 1. Actividad proteolítica durante el cultivo celular de *J. mexicana* en el biorreactor airlift.

Por otro lado, la turbulencia fue suficiente para mantener homogénea la distribución de las fases presentes en el biorreactor. Con respecto a los requerimientos de consumo de oxígeno de las células, estos fueron cubiertos, pues considerando una diferencia de concentración de oxígeno disuelto de 0.01 mMol/L y el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno obtenido, 34 h^{-1} , se tuvo una velocidad de transferencia de oxígeno varias veces mayor a los requerimientos típicos de células vegetales.

Conclusiones.

La actividad proteolítica en el cultivo de células de *J. mexicana* en el biorreactor fue similar a la obtenida en el cultivo en matraz al usar un extracto de *A. niger*, donde se obtuvo un incremento de 1.3 veces. Lo cual indica que efectivamente se llevó a cabo el efecto de elicitación.

Al parecer, las condiciones hidrodinámicas y de transferencia de oxígeno en el biorreactor no afectaron a las células de *J. mexicana* con respecto a la producción de proteasas.

Agradecimientos. ²SIBE-COFFA-IPN, ¹PIFI, Proyecto CGPI: 200501149 y SIP: 20060388.

Bibliografía.

- Martínez Guillén J.B., García Salas S., Oliver Salvador M.C. (2006). Desempeño de un Biorreactor Neumático para Producción de Enzimas Proteolíticas por Cultivo de Células Vegetales. IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Morelia Mich., del 4-7 de abril.
- Xu J.F., Sun Y., Su Z.G. (1998). Enhanced peroxidase production by suspension culture of carrot compact callus aggregates. *Journal of Biotechnology*. 65:203-208.
- Zhao, J, Lawrence, D, Verpoorte, R (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 23(4):283-333.