



SELECCIÓN DE UNA CEPA FÚNGICA TERMOTOLERANTE PRODUCTORA DE PROTEASAS TERMOESTABLES

Ricardo Hernández, Sergio Huerta, Carlos Regalado, Octavio Loera y Lilia Arely Prado*,

*Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México D.F., 09340

Tel. 5804 6555 ó 5804 4999, fax 58046554, [lapb@xanum.mx](mailto:lapb@xanum.uam.mx)

Palabras clave: Proteasas, termófilo, termoestable, fermentación.

Introducción. Una limitación del uso de enzimas a nivel industrial es su baja estabilidad, sin embargo, las enzimas obtenidas a partir de microorganismos termotolerantes son una opción¹, como las proteasas², que se podrían utilizar en procesos en los que se requieren para catalizar reacciones a temperaturas elevadas (60-100°C)³.

El objetivo del presente trabajo fue seleccionar una cepa fúngica termotolerante productora de proteasas termoestables.

Metodología. A partir de una colección de 72 cepas, la selección de cepas se realizó en tres etapas. Primero se seleccionaron aquellas que crecieron a 45°C; la segunda etapa se basó en la producción de proteasas en placas de agar leche descremada donde el criterio de selección fue el índice de potencia (IP), el cual se define como la relación entre el diámetro del halo de hidrólisis y el diámetro de la colonia. En la tercera etapa se evaluó cuantitativamente la producción de proteasas producidas por fermentación en medio sólido (FMS) a 45°C, utilizando harina de pescado como sustrato y espuma de poliuretano (PUF) como soporte inerte. La concentración de inóculo se ajustó a 2×10^7 esporas/g de materia seca. La actividad proteolítica se determinó por el método de Kembhavi modificado. Una unidad enzimática (U) se definió como la cantidad de enzima que liberan 1 µg de tirosina por minuto.

Resultados y discusión. En la primera etapa de selección sólo 29 cepas crecieron a 45°C. Posteriormente, fueron seleccionadas las cepas 2.2 aB (IP=1.03), 2.7 aB (IP=1.03) y 36 aIV (IP=1) por presentar los mayores IP. En la Figura 1 se muestra la cinética de producción de proteasas fúngicas por FMS, se observa que a las 36 h de cultivo se alcanza la mayor producción de proteasas para las cepas 2.2 aB y 36 aIV (325.7 y 343.8 U/mL, respectivamente), mientras que para el extracto producido por la cepa 2.7 aB la máxima actividad se presentó a las 48 h de cultivo (181 U/mL). Existe una gran variedad reportes que describen la producción de proteasas utilizando diversas fuentes de carbono como sustrato, pero solo algunos hacen referencia a la producción de proteasas termoestables. Ghorbel y col. reportaron la producción de proteasas termoestables por *Bacillus licheniformis* NH1 en fermentación en medio líquido utilizando caseína como fuente de carbono y extracto de levadura como fuente de nitrógeno obteniendo una actividad de 1665 U/mL. Por otro lado Gandolfi y Peralta encontraron que la máxima actividad proteolítica producida por *Aspergillus tamaraii* utilizando salvado de trigo como sustrato fue de 161 U/mL. Al comparar las actividades proteolíticas alcanzadas en este

trabajo con las dos cepas antes mencionadas se encontró que la cepa de *Bacillus licheniformis* NH1 presento una actividad superior a las cepas 2.2 aB y 36 aIV (325.7 y 343.8 U/mL, respectivamente), sin embargo es importante aclarar que este trabajo las condiciones de producción no han sido optimizadas. Por otro lado al comparar con *Aspergillus tamaraii* (cepa fúngica) se encontró que las dos cepas estudiadas en este trabajo superaron la actividad producida por ese hongo.

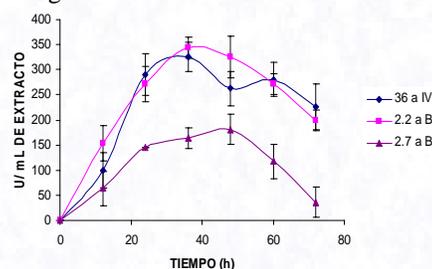


Figura 1. Cinética de producción de proteasas por las cepas 2.2 aB, 2.7 aB y 36 aIV

Conclusión. Las cepas 2.2 aB y 36 aIV presentaron la mayor actividad enzimática a las 36 h de cultivo, ambas fueron las cepas seleccionadas para la producción de extractos proteolíticos. Si en el futuro se estudiaran los factores que intervienen en la producción de proteasas se podría aumentar considerablemente la cantidad y reducir el tiempo de máxima producción. Actualmente se realizan estudios de termoestabilidad podría corroborar si el extracto tiene características de estabilidad térmica.

Bibliografía.

- 1.- Yano J. Y Poulos T. (2003). New Understandings of the thermostable and peizostables enzymes. *Current Opinion in Biotechnology*. (14):360-365.
- 2.-Zhu W., Cha D., Peng Q. y Shen P. (2006). Purification and characterization of Thermostable protease from a newly isolate *Geobacillus* sp. YMTC 1049. *Enzyme and Microbiol Techno.Article in press*.
- 3.- Haki G. y Rakshit S. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes. *A Review Bioresource Technology*. (89): 17-34.
4. Ghorbel B, Kamoun A. y Nasri M. (2003). Stability studies of protease from *Bacillus cereus* BG1. *enzyme and Microbial Technology*. (32): 513-518.
- 5.- Gandolfi C. y Marina R. (2000). Production of extracellular protease by *Aspergillus tamaraii*. *Journal Basic Microbiology*. (40): 75-81.