

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA EN LA PRODUCCIÓN DE PROTEASAS FÚNGICAS OBTENIDAS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO.

María-de-Jesús García-Gómez, Sergio Huerta-Ochoa, Octavio Loera-Corral y Arely Prado-Barragán
 Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. Departamento de Biotecnología
 San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina Delg. Iztapalapa, D.F. Tel 58 04 65 55, Fax 58 04 65 54
 e-mail: lapb@xanum.uam.mx

Palabras clave: Aspergillus, fermentación en medio sólido, proteasas.

Introducción. Las enzimas proteolíticas representan aproximadamente el 60% de las enzimas industriales comercializadas mundialmente. Uno de los métodos empleados para la obtención industrial de enzimas proteolíticas es la fermentación en medio sólido, sin embargo, la principal limitante en el uso de las proteasas es que la obtención de éstas es muy costosa. Con la finalidad de mejorar el rendimiento en la producción de proteasas se realizan estrategias como probar cepas sobreproductoras de enzimas proteolíticas y/o optimizar el medio de fermentación (1).

El objetivo de este trabajo fue seleccionar un medio y una cepa fúngica que presentaran la mayor producción de enzimas proteolíticas en fermentación sólida.

Metodología. Los extractos proteolíticos se obtuvieron mediante fermentación sólida con las cepas *A. oryzae* 2095, *A. niger* 2088 y *A. niger* ANH15; mientras que los medios de fermentación contenían harina de pescado y espuma de poliuretano en una relación 70:30 p/p, así como diferentes concentraciones de glucosa (%): 0, 5, 10 y 15. Las fermentaciones se realizaron a pH inicial 6, 30°C, 2×10^7 esporas/g materia seca y flujo de aire de 40 cc/min. A los extractos obtenidos se les determinó la actividad proteolítica a pH 7 (2). Con la cepa y el medio de fermentación seleccionados se realizó una cinética en la cual se determinó el pH durante 72 h, se analizó el crecimiento de los hongos a través de la detección en línea de CO₂ y se determinó la actividad proteolítica (pH 2.7, 7, 10) (2) de los extractos a diferentes tiempos (24, 32, 40, 48, 63, 72 h).

Resultados y discusión. En la Tabla 1 se observa que la cepa 2095 obtuvo 7 y 4.5 veces mayor actividad proteolítica que las cepas ANH15 y 2088 respectivamente.

Tabla 1. Actividad proteolítica (U/ml extracto) de los extractos obtenidos a partir de la fermentación de harina de pescado con 4 concentraciones de glucosa por 3 cepas fúngicas a las 36 horas de fermentación.

% glucosa	<i>A. niger</i> 2088	<i>A. niger</i> ANH-15	<i>A. niger</i> 2095
0	0.50	0.00	20.08
5	1.03	4.45	20.21
10	2.79	0.23	3.37
15	0.20	2.17	1.12

No se observó diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre los medios que contenían 0% y 5% de glucosa con la cepa 2095. Se ha reportado que *A. oryzae* produce proteasas ácidas, neutras y alcalinas (3), sin embargo bajo las condiciones de estudio la actividad proteolítica a pH 2.7 no se detectó (Fig. 1), mientras que la actividad proteolítica a pH 7 y 10 fue

evidente, esto pudo deberse a que el pH del medio de fermentación favorece la producción de extractos proteolíticos neutros y alcalinos (3). Además, en la Fig. 1 se observa que la producción de proteasas inició a las 32 h de fermentación alcanzándose la actividad máxima a las 40 h, siendo mayor la actividad proteolítica alcalina (21.77 U/ml ext) que la neutra (17.21 U/ml ext). Al analizar las curvas de producción de CO₂ y actividad proteolítica se observó que la producción de proteasas se encuentra asociada a la fase exponencial de crecimiento.

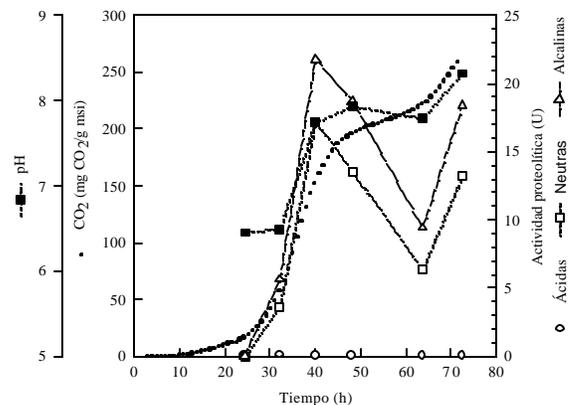


Fig. 1. Cinética de producción de CO₂ y actividad proteolítica (•)CO₂, (o)Act. prot. pH 2.7, (?)Act. prot. pH 7, (?) Act. prot. pH 10 y (?) pH medio de fermentación

Conclusiones. La concentración de glucosa en el medio fermentado con la cepa 2095 favorece la producción de proteasas solo a bajas concentraciones. Además, dicha cepa produce proteasas neutras y alcalinas, las cuales se encuentran asociadas al crecimiento. La fermentación sólida de harina de pescado con *A. oryzae* 2095 produce un extracto proteolítico de interés en un corto periodo de tiempo.

Agradecimientos. CONACyT (becaria 133291) y Dr. Ernesto Favela Torres por sus comentarios.

Bibliografía. 1. Rao, M, Tankesale, A, Ghatge, M y Deshpande, V. (1998). Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiol and Mol Biol Reviews*. 62 (3): 597-635.
 2. Ichishima, E. (1970). Acid proteinases. En: *Methods in Enzymology*. Academic Press, U.S.A. 397-406.
 3. Battagliano, R, Huergo, M, Pilosof, M y Bartholomai, G. (1991). Culture requirements for the production of protease by *Aspergillus oryzae* in solid state fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 35:292-296.