

PROTEASA FÚNGICAS OBTENIDAS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO A PARTIR DE HARINA DE PESCADO Y SU APLICACIÓN EN LA HIDRÓLISIS DE MÚSCULO DE CARPA DORADA (*Carassius auratus*).

Ma. Cristina Acevedo, Sergio Huerta Ochoa, Ernesto Favela, Arely Prado*
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina-Iztapalapa, México, D.F.
Fax (52) 55 5804-6554, e-mail: lapb@xanum.uam.mx

Palabras clave: FMS, proteasas fúngicas, Flavourzyme?

Introducción. Las proteasas representan el 60% del mercado de enzimas industriales y son ampliamente usadas en la industria de alimentos. El uso de hongos filamentosos para producir enzimas tiene una gran ventaja, son productores de enzimas extracelulares de fácil recuperación empleando fermentación en medio sólido (FMS), una tecnología ambientalmente sustentable, pues pueden usarse sustratos biodegradables como la harina de pescado (1). Además, las proteasas producidas por este medio podrían usarse para obtener hidrolizados de proteína de subproductos pesqueros que no son utilizados como fuente de proteínas (2).

El objetivo de este trabajo fue comparar parámetros cinéticos de extractos proteolíticos fúngicos producidos por FMS a partir de harina de pescado y compararlos con una proteasa comercial; así como calcular el tamaño molecular aproximado de las diferentes proteasas contenidas en los extractos proteolíticos.

Metodología. Se utilizó harina de pescado y salvado de trigo como soporte-sustrato en una relación de 60/40. Se inocularon cepas de *Rhizopus oryzae* 2340, *Aspergillus oryzae* 2095, *A.niger* 2088 y *A.niger* ANH-15, en reactores tubulares de lecho empacado (0.4 g/cm³), se incubaron a 30°C, 50%H y aireación de 60 mL/min. Se determinó CO₂ en un Metabolómetro (UAM-I). El extracto proteolítico (EP) se extrajo con agua destilada (10mL/g). Se cuantificó actividad proteolítica (AP) a los EPs (3). Se homogeneizó filete de Carpa Dorada (*Carassius auratus*) y se hizo una suspensión 1:2 en búffer de fosfatos pH 6.5. Se realizaron cinéticas de hidrólisis con los EPs y la proteasa comercial Flavourzyme? a 30°C y pH 6.5 durante 120 min. y se determinó Grado de Hidrólisis (GH) (4). El peso molecular (PM) de los EPs se determinó por cromatografía en gel usando Sephadex G50 y la fase móvil fue un buffer de fosfatos 2 mM pH 6.8.

Resultados y discusión. En la Tabla 1 se observa que la mayor velocidad específica de crecimiento se obtuvo con la cepa *R. oryzae* 2340, así como el mayor GH después de Flavourzyme?, sin embargo este EP tuvo menor AP. Los EPs que presentaron mayor AP después de Flavourzyme? fueron los producidos por *A. oryzae* 2095 y por *A. niger* ANH-15. La diferencia entre las APs y GH se debe a que los EPs son diferentes y su actividad catalítica depende del sustrato y las condiciones de reacción (5). El PM aproximado de las proteasas contenidas en los EPs y de Flavourzyme? se calculó por cromatografía en gel. Flavourzyme? presentó fracciones con proteína alrededor de

50 kDa, mientras que los EPs presentaron fracciones con proteína alrededor de 1.5 y 50 kDa. Se determinó AP a las fracciones que presentaron proteína y se encontró, que las fracciones con PM alrededor de los 50 kDa fueron generadas por las proteasas producidas durante la fermentación. Las fracciones con PM alrededor de 1.5 kDa no presentaron AP, por lo que estas fracciones fueron generadas por péptidos solubles provenientes de la harina de pescado, el salvado de trigo y del micelio. Los PMs de las proteasas obtenidas en este trabajo entran dentro del intervalo reportado por Venugopal (6), quien reportó que las proteasas microbianas tiene un PM entre 20 y 50 kDa.

Tabla 1 Velocidad específica de crecimiento, actividad proteolítica y tamaño molecular aproximado de las proteasas contenidas en los EPs y la proteasa comercial.

EP y complejo comercial.	? _{max} (h ⁻¹)	AP (UE/mg prot)	GH _{max} %	PM (kDa)
Favourzyme?	---	8.710	16	51.79
<i>A. niger</i> 2088	0.249	0.519	6.5	53.49
<i>A. niger</i> ANH-15	0.294	3.335	7.2	46.66
<i>A. oryzae</i> 2095	0.255	3.704	6.5	51.79
<i>R. oryzae</i> 2340	0.466	0.998	12	44.96

Conclusiones. Los EPs que presentaron mayor AP fueron *A. oryzae* 2095 y *A. niger* ANH-15. El EP *R. oryzae* 2340 fue el que alcanzó mayor GH_{max}, acercándose a los valores obtenidos con Flavourzyme?. Será de suma importancia caracterizar los EPs obtenidos con respecto a [E/S], pH y temperatura óptimos de reacción para su mejor aplicación en la obtención de hidrolizados de pescado.

Bibliografía.

- Mitra, P, Chakraverty, R y Chandra, A. (1996). Production of proteolytic enzymes by solid state fermentation. *Jour. Of Sci. & Indust. Res.* 55:439-442
- Kristinsson, H y Rasco, B. (2000). Fish Protein Hydrolysates Production. *J.Agric.Food Chem.* 48(3):657-666
- Perlman, G. (1970). Proteolytic Enzymes. En: *Methods in Enzymology*. Academic Press, London. 19:397-399
- Benjakul, S y Morrissey, M. (1997). Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Waste. *J.Agric.Food Chem.* 45(9):3423-3430
- Clemente, A, Vioque, J, Sánchez, R, Pedroche, J y Millan, F. (1999). Production of extensive chickpea (*Cicer aritimum L.*) protein hydrolysates with reduced antigenic activity, *J.Agric. Food Chem.* 47: 3776-3781
- Venugopal, V. (1994). Production of Fish Protein Hydrolysates by microorganisms. En: *Fisheries Processing: Biotechnological Applications*. Martin A. Chapman & Hall, London. 228