



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## PRODUCCION Y CUANTIFICACIÓN DE LA ENZIMA PROTEASA OBTENIDA A PARTIR DE MICROORGANISMOS PROCARIOTAS AISLADOS DE RUMEN BOVINO

Ana Verónica Charles Rodríguez<sup>1</sup>, Tomás López Altunar<sup>1</sup>, Jesús Manuel Fuentes Rodríguez<sup>1</sup>, Juan Mauricio Benavides<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Producción Animal. Calzada Antonio Narro 1923

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Medicina, Unidad Saltillo.  
anavero29@gmail.com

*Palabras clave: proteasa, microorganismos ruminales, enzimas.*

**Introducción.** El rumen es una cámara de anaerobiosis que provee los nutrientes que permite el crecimiento y desarrollo de los microorganismos ruminales, que tienen la capacidad de utilizar un determinado sustrato; las poblaciones microbianas que viven en el rumen son específicamente bacterias, protozoos y hongos en diferentes concentraciones. En el mundo de la industria se requiere de usos de enzimas animales, vegetales y microbianas, siendo sin lugar a duda y las más utilizadas las enzimas microbianas (1). La utilización de las enzimas a nivel industrial presenta una serie de ventajas sobre los métodos no biológicos, por lo que representan una fuente alternativa en la industria alimentaria. El objetivo del presente trabajo fue el aislamiento e identificación macro- y microscópica y bioquímica de los microorganismos procariotas presentes en líquido ruminal del ganado Holstein, alimentado con dietas enriquecidas con productos de la industria cervecera (levadura inactiva) para la producción de una enzima proteasa.

**Metodología** Se utilizaron 4 vacas multíparas de la raza Holstein las cuales fueron alimentadas durante 120 días con una dieta balanceada y adicionando residuos agroindustriales de la industria cervecera. Posteriormente se extrajo el líquido ruminal y se sembró en agar Sheadler y nutritivo y medio tioglicolato de sodio para su proliferación incubando a 40°C bajo condiciones anaeróbicas. Las cepas puras fueron caracterizadas macro-, micro- y bioquímicamente. Para la producción de la proteasa se empleó un medio de cultivo mineral y se le adicionó leche descremada como fuente de carbono, la curva de crecimiento se siguió mediante turbidez y la cuantificación de proteína celular y extracelular por Biuret. Se realizaron cinéticas enzimáticas empleando el extracto enzimático por tiempos de 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 min y cuantificando su actividad mediante Biuret.

**Resultados.** La cepa 652 VLI-2 fue identificada como *S. ruminantium* spp. por sus características macro- y microscópicas y bioquímicas (2). La figura 1 muestra que el microorganismo alcanza su fase exponencial teniendo un crecimiento hasta las 24 h de fermentación en Tioglicolato, mientras que en medio específico obtuvo su máximo crecimiento a las 24 h de fermentación con una

$\mu$  de 0.0692 DO/h y un valor máximo de proteína extracelular de 0.45 mg/mL. La figura 2 muestra el comportamiento de la producción de la enzima proteasa mostrando que a las 24 h de fermentación

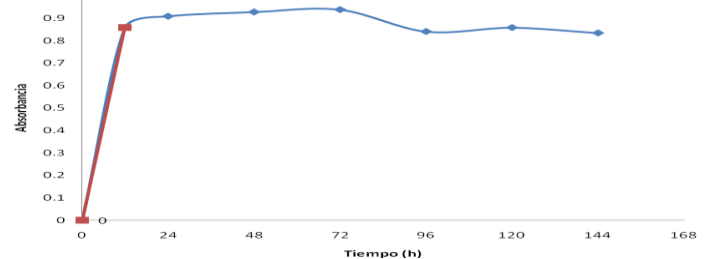


Fig. 1. Curva de crecimiento de la cepa 652 VLI-2 en Tioglicolato de sodio a 40°C en anaerobiosis.

se obtiene la máxima actividad con valores de 0.75 U (mg/mL de proteína). Algunos microorganismos como *S. ruminantium*, *Prevotella ruminicola*, entre otros presentan varias actividades proteolíticas, ya que pueden incorporar péptidos de un determinado tamaño directamente a su síntesis proteica, y ser incapaz de utilizar aminoácidos libres (Cotta, 1986).

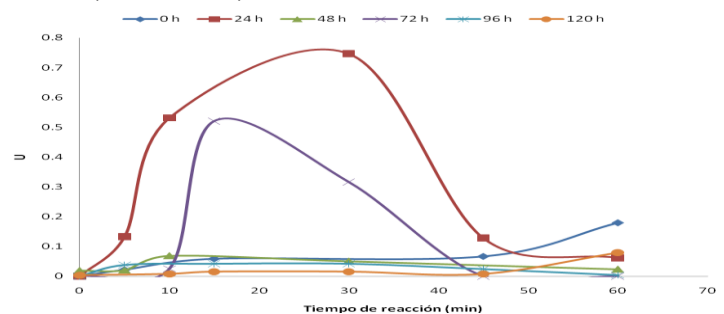


Fig. 2. Cinética enzimática de la cepa 652 VLI-2

**Conclusiones** La cepa ruminal 652 VLI-2 representa una fuente alternativa para la producción de proteasas con gran actividad.

**Agradecimiento** A la UAAAN por el financiamiento para la realización del proyecto 02-03-0404-0219.

**Bibliografía.** 1) Hobson, P. 1982. Microbial ecology activities in the rumen part II. C RC Cit RevMicrobio. (9) 253-320. 2) Hobson, P. 1956. Continuous culture of some anaerobic and facultative rumen bacteria. J. gen. Microbiol (38) 167-180. 3) Cotta, M. 1986. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. J. Dairy Sci. 65:226-234.