



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## AISLAMIENTO DE CEPAS DE BACILLUS PRODUCTORAS DE PROTEASAS DE APLICACIÓN INDUSTRIAL

Julián Zaragoza Carmona, Elim Lara Alvarez, Elizabeth Alemán, Monica N. Sanchez Gonzalez, Jesus A. Gomez Treviño UANL Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Biotecnología. San Nicolás de los Garza CP 66635 maria.alemanhr@uanl.edu.mx

*Palabras clave: Bacillus, proteasas, detergentes.*

**Introducción.** Las proteasas son enzimas que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas, las proteasas representan uno de los 3 grandes grupos de enzimas industriales y ocupan el 60% del mercado[1]. Las proteasas alcalinas o subtilisinas, son un grupo fisiológica y comercialmente importante, utilizadas primordialmente como aditivos en detergentes, procesado de pieles, recuperación de plata, procesamiento de alimentos y tratamiento de aguas. El rango de pH óptimo es generalmente entre 9 y 11. Las temperaturas optimas van desde 50°C hasta 70°C [2]. La masa molecular varía entre 15 a 30kDa [3]. De todos los microorganismos alcalófilos que han sido estudiados para ser utilizados en aplicaciones industriales, los miembros del género *Bacillus* predominan como fuente productora de proteasas alcalinas [4]. Estas proteasas añadidas a los detergentes ayudan en la liberación de material proteico en las manchas. Aparte permiten temperaturas de lavado menores y periodos cortos de agitación, después del periodo de enjuagado.

El objetivo de esta investigación fue aislar microorganismos del género *Bacillus* y así como el estudio de una proteasa proveniente de una de las cepas aisladas.

**Metodología.** Se recolectaron 3 muestras de suelo de las cuales se aislaron cepas de *Bacillus* sp. y se incubaron a 37°C en agar cerebro corazón. La caracterización de las diferentes cepas, se realizó mediante pruebas bioquímicas reportadas para el género *Bacillus*. Se llevaron a cabo fermentaciones de las cepas aisladas a 37°C a 150rpm por 48hrs. El sobrenadante de estas fermentaciones fue utilizado para el análisis de detección de actividad proteolítica. Se realizaron geles de poliacrilamida al 10% añadiendo como sustrato para la enzima gelatina al 1%. Se probaron 2 condiciones de pH (7 y 10) y 3 diferentes temperaturas (40°C, 60°C, 80°C). Por el método para la actividad de proteasas de Sigma[5] se cuantificaron las U/ml de proteasa de la cepa 5304. Se hizo un ensayo de actividad hemolítica con la proteasa proveniente de la cepa 5304, con SDS como detergente en concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20%.

**Resultados.** Se aislaron 17 cepas de *Bacillus* a partir de las muestras de suelo. El 80% de las cepas mostro actividad proteolítica. Se seleccionó la cepa 5304 para el estudio de su enzima proteolítica ya que fue la que tuvo mejor estabilidad en las pruebas de pH y temperatura Fig.1. Tanto la temperatura como el pH afectan la actividad proteolítica en la Fig. 2 se muestra el efecto del pH en la actividad de la enzima.

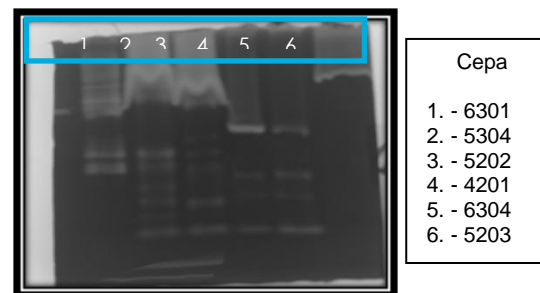


Fig. 1. Resistencia enzimática de las cepas en estudio a 40°C

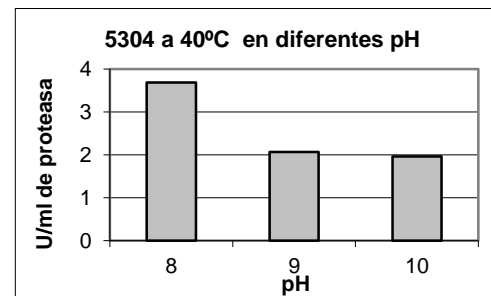


Fig.2 Efecto del pH en la actividad proteolítica de la Ceba 5304

**Conclusiones.** La cepa 5304 mostro una temperatura optima de actividad a 40°C y un pH optimo de actividad de 8. La proteasa mostro actividad hemolítica con uso potencial en la industria de los detergentes debido a su compatibilidad con un detergente iónico fuerte y tolerancia a pH 10 y temperatura de 80°C.

**Bibliografía.** [1] Mala B. Rao, Aparna M. Tanksale, Mohini S. Ghatge, and Vasanti V. Biology Reviews, Sept. 1998, p. 597–635. [2] C. Ganesh Kumar, Hiroshi Takagi. *Biotechnology Advances* 17 (1999) 561–594. [3] Fogarty WM, Griffin PJ, Joyce AM. *Enzymes of Bacillus species—Part 2.* *Process Biochem* 1974;9:27–29, 31, 33, 35. [5] Cupp-Enyard C. (2008). <http://www.jove.com/index/Details.stp?ID=899>, doi: 10.3791/899