



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN INGREDIENTES VEGETALES TRATADOS CON DOS FITASAS TERMOESTABLES

Martha Guerrero-Olazarán¹, A. Ricardo García-Arellano¹, Denis Ricque-Marie², Mireya Tapia-Salazar², L. Elizabeth Cruz-Suárez², José M. Viader-Salvadó¹

¹Instituto de Biotecnología, ²Programa de Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66450. martha.guerreroool@uanl.edu.mx

Palabras clave: Fitasas, soya (Glycine max), chícharo (Pisum sativum)

Introducción. El bajo contenido de fitasas en vegetales y su baja o nula acción en el tracto gastrointestinal de los animales limita la disponibilidad de fósforo de ingredientes de origen vegetal con alto contenido de fitato. La adición de fitasas exógenas, la mayoría fúngicas y activas a pH ácidos, es una práctica usual en la nutrición de animales monogástricos, sin embargo, en nutrición de camarón está práctica aún se encuentra en desarrollo.

En el presente trabajo, se evaluó la liberación de fósforo de pasta de soya (*Glycine max*) y de un concentrado proteico de chícharo (*Pisum sativum*), tratados con dos fitasas termoestables (PhyC-R y FTEII) producidas en *Pichia pastoris* (1, 2).

Metodología. Las fitasas (PhyC-R y FTEII) se emplearon a una concentración de 1600 U/kg de ingrediente. Adicionalmente, se utilizaron las fitasas Natuphos (BASF/DSM) y Allzyme SSF (Alltech, Inc.) como referencia en ensayos paralelos. La pasta de soya con 0.38% de fósforo fítico y 0.65% de fósforo total (Proteínas Naturales, N.L., México.) y un concentrado proteico de chícharo con 0.58% de fósforo fítico y 0.89% de fósforo total (Prestige protein R400, Parheim Foods Ltd. Saskatoon, Canadá) se trataron con cada fitasa en una mezcla de reacción conteniendo agua MilliQ (pH 6.3) en una relación 1:2 (ingrediente: agua). Cada suspensión de ingrediente-agua-fitasas y los controles sin enzima, se incubaron con agitación constante a diferentes temperaturas (30, 40 y 50°C) y tiempos (0 a 12 h). La reacción enzimática se detuvo con TCA al 15% y del sobrenadante recuperado se determinó el fosfato liberado. El resultado de este análisis se expresó en g/kg de P liberado de ingrediente tratado o como el porcentaje respecto al fósforo total presente en cada ingrediente. Todos los ensayos se hicieron al menos por triplicado y se compararon entre sí mediante un ANOVA y una prueba de Tukey.

Resultados. En los tratamientos sin suplementación de fitasas se liberó hasta un 25% (pasta de soya) y un 17% (concentrado de chícharo) del fósforo total, debido a la probable presencia de fosfatasa endógenas o a las condiciones de reacción. El fósforo total liberado (g/kg) en cada ingrediente tratado con fitasas fue dependiente del tiempo y la temperatura con valores máximos a las 10 y 12 h de reacción, obteniendo valores de hasta 65% (4.2 ± 0.1 g/kg), 68% (4.4 ± 0.1 g/kg), 34% (2.2 ± 0.3 g/kg) y 29% (1.9 ± 0.2 g/kg) en los tratamientos de pasta de soya con PhyC-R (40°C), FTEII (50°C), Natuphos y Allzyme SSF (30°C), respectivamente. Para chícharo se obtuvieron valores de hasta 53% (4.8 ± 0.1 g/kg) con PhyC-R (40°C), 57% (5.1 ± 0.1 g/kg) con FTEII (50°C), 38% (3.4 ± 0.1 g/kg) con Natuphos y 24% (2.1 ± 0.1 g/kg) con Allzyme SSF (30°C). Los valores bajos de fósforo liberado en los tratamientos con las fitasas comerciales pudieron deberse a la baja actividad de estas fitasas al pH del agua empleada (6.3). A diferencia de las fitasas comerciales, las dos fitasas recombinantes son específicas para fitato, por lo cual es posible asumir que el P liberado proviene sólo del fitato.

Conclusiones. Las fitasas termoestables producidas en *P. pastoris* ofrecen una alternativa viable para hacer disponible el fósforo fítico de ingredientes vegetales a valores de pH neutros.

Agradecimientos. Agradecemos el apoyo económico del Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICyT) de la UANL.

Bibliografía.

1. M. Guerrero-Olazarán, L. Rodríguez-Blanco, J.G. Carreón-Treviño, J.A. Gallegos-López, J.M. Viader-Salvadó. 2010. Expression of *Bacillus* phytase C gene in *Pichia pastoris* and properties of the recombinant enzyme. Appl. Environ. Microbiol, 76(16): 5601-5608
2. J.M. Viader-Salvadó, J.A. Gallegos-López, J.G. Carreón-Treviño, M. Castillo-Galván, A. Rojo-Domínguez, M. Guerrero-Olazarán. 2010. Design of thermostable beta-propeller phytases with a broad range of pH activity and their overproduction by *Pichia pastoris*. Appl. Environ. Microbiol. 76(19): 6423-6430.