



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



PRODUCCIÓN DE PROTEASAS POR CEPAS DEL GÉNERO *MUCOR* EN UN SISTEMA DE FERMENTACIÓN SUMERGIDA

Sánchez-Robles J. H. ⁽¹⁾ Iliná A. ⁽¹⁾ Lara F. ⁽²⁾ Martínez-Hernández J. L. ⁽¹⁾.

(1) Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México 25000. (2) Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios (CISEF). Saltillo, Coahuila, México C.P. 25000. jose-martinez@uadec.edu.mx

Palabras clave: Proteasas, Mucorales, Fermentación Sumergida.

Introducción. Las proteasas son enzimas que pueden catalizar reacciones de hidrólisis de diferentes sustratos como: ésteres, glucósidos, éteres, enlaces peptídicos y enlaces C-N no peptídico (1). Pueden provenir de diversas fuentes de las cuales se destacan los hongos. Los hongos no son nutricionalmente exigentes y se caracterizan por la producción de enzimas extracelulares lo que facilita su purificación (2). Dentro de los hongos que pueden producir estas enzimas se encuentra los del género *Mucor*, importante por su potencial biotecnológico, siendo responsable de la producción de enzimas industriales, ácidos orgánicos y etanol.

El objetivo de este estudio es evaluar la capacidad de dos cepas autóctonas de *Mucor spp.* en la producción de proteasas en un sistema de fermentación sumergida con suero lácteo como medio de cultivo.

Metodología. Se usaron dos cepas de *Mucor spp.*, denominadas como M01PP y M05PP, provenientes de semi-desierto de Coahuila y aisladas en un estudio previo de selección. Se usó un sistema de fermentación sumergida utilizando suero lácteo como fuente de nutrientes a un volumen de trabajo de 50 ml, el cual se inoculó con 10^6 esporas/ml y se incubó a 30°C por 120 h. A cada muestra se le determinó la concentración de proteínas, azúcares totales y actividad proteasa (3). A los extractos enzimáticos se les realizó la zimografía utilizando en la electroforesis el gel de poliacrilamida/gelatina y el revelado con azul de Commassie (4).

Resultados. La fermentación se llevó a cabo con suero lácteo a un pH inicial de 4.7. Se observó que el mayor aumento de la actividad proteasa al comparar con valores correspondientes al tiempo cero de fermentación, fue de 3.57 UT/ml (Fig. 1) para la cepa M01PP a las 120 h de fermentación, mientras que para la cepa M05PP fue de 5.25 UT/ml al mismo tiempo de fermentación (Fig. 2). La actividad a las 0 h se puede atribuir a la presencia de la enzima proveniente de las placas de agar de donde se obtiene el inóculo. Ramírez-Cruz (2009) (5) reportó que la mayor actividad proteasa de *Mucor griseocyanus* fue de 3.11 UT/ml, usando suero lácteo como medio de cultivo, y de 0.8 UT/ml en el medio con glucosa como fuente de carbono. Los valores de actividad detectada en el presente estudio superan los valores correspondientes a la cepa de *Mucor griseocyanus*. Los niveles de

azúcares totales (Figs. 1 y 2) se describen con un comportamiento típico: a las 72 h alcanzan un valor mínimo seguido por un aumento, lo que indica consumo de azúcares y posterior adaptación del hongo. Cabe mencionar que el cambio de niveles de la concentración de proteínas en el sistema se caracterizó por el perfil cinético alcanzando valores mínimos de 225.193 y 28.488 mg/ml y aumentándose hasta 1251.55 y 1155.232 mg/ml para M01PP y M05PP, respectivamente

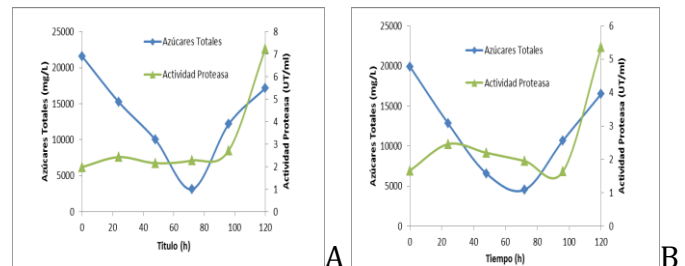


Fig. 1. Producción de proteasas por la cepa de *Mucor spp.*, A) M01PP, B) M05PP

La zimografía mostró la presencia de enzimas con diferente peso molecular. Este resultado coincide con la hipótesis propuesta en un estudio previo (5) al analizar el perfil de actividad de extractos a diferentes pHs, el cual explica la presencia de diferentes isoformas de proteasas.

Conclusiones. Se demostró la capacidad de las cepas autóctonas M01PP y M05PP del género *Mucor* para producir proteasas, se corroboró que el sistema sumergido es un proceso eficiente para su obtención y que el suero lácteo es un medio adecuado para ser aplicado en este proceso.

Bibliografía.

1. Sáez V. A. Proteasas alcalinas de una cepa nativa de *Bacillus sp* Alcalofílico, 2006. *Rev. Ingeniería y Ciencia*, 2: 29-38.
2. Adinarayana K., Ellaiah P., y Prasad D. S. Purification and Partial Characterization of Thermostable Serine Alkaline Protease from a Newly Isolated *Bacillus subtilis* PE-11. 2003.
3. Fang L. Wenqing L. Darin R, Tingyue G y Murray M-Y. Inhibition of extracellular protease secretion by *Aspergillus niger* using cell immobilization, 1998, *Biotechnol Lett* 20 (6): 539-542
4. Regalado C. García B. E. 2010. Innovations in food science and food Biotechnology in developing countries. *Food Enzymology and Molecular Biology*. Guillén. 139-147.
5. Ramírez, C. A. Producción de proteasas de *Mucor griseocyanus* en cultivo sumergido empleando diferentes fuentes de carbono, 2009, *Tesis de licenciatura*, Facultad de ciencias químicas. UAdeC.