

PRODUCCIÓN DE ENZIMAS QUITINOLÍTICAS DE LA CEPA HALOTOLERANTE C6 POR FERMENTACIÓN LÍQUIDA

Dora Alicia Rodríguez Franco¹, Luis Alberto Cira Chávez¹, María Isabel Estrada Alvarado¹, Keiko Shirai Matsumoto², Sergio de los Santos Villalobos¹ y Saúl Ruíz Cruz¹

¹Instituto Tecnológico de Sonora, Depto. de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, 85000, Cd. Obregón, Sonora.

²Universidad Autónoma Metropolitana, Depto. de Biotecnología, 09340, Cd. de México, CDMX
e-mail: luis.cira@itson.edu.mx; dorafranco23@hotmail.com

Palabras clave: halófilos, *N*-acetilhexosaminidasa, endoquitinasa

Introducción. Desde hace algunas décadas, se ha impulsado la obtención de metabolitos de interés industrial a partir de microorganismos extremófilos debido a su mayor resistencia a condiciones fisicoquímicas severas. En Sonora, se tienen fuentes importantes de bacterias halófilas como son las zonas costeras. Dentro de los metabolitos más estudiadas se encuentran las enzimas, por ser las catalizadoras de ininidad de reacciones. En el presente trabajo, se puso especial interés en las quitinasas, debido a las distintas aplicaciones en la industria, en el tratamiento de residuos quitinosos y la biorremediación de suelos (1).

Es por ello que el objetivo fue evaluar la producción de quitinasas (EC 3.2.1.14 y 3.2.1.52) extracelulares a partir de la cepa halotolerante C6, mediante fermentación líquida.

Metodología. La cepa fue aislada de suelos salinos de la costa de Sonora. Esta se caracterizó morfológica y bioquímicamente según el manual de Bergey's y se determinó su capacidad para hidrolizar quitina en placa, revelando con lugol. La fermentación líquida se realizó en medio quitina-sales (2) por 10 días con agitación a 37°C. Posteriormente, se determinó la concentración de proteína (3), actividad *N*-acetilhexosaminidasa (Nhasa) y endoquitinasa (4), perfil electroforético mediante SDS-PAGE (5) y actividad en gel (6).

Resultados. La cepa C6 es un bacilo gram positivo formador de esporas cuyas características se describen en la **Tabla 1**. Se obtuvo un 69.70% de hidrólisis en caja a las 48h. En la cinética, se presentó la mayor actividad endoquitinasa y Nhasa a las 72h (1,646.6 U/mg) y 240h (0.196 U/mg), respectivamente (**Figura 1**); indicando que primero actúa la endoquitinasa produciendo quitooligosacáridos y posteriormente la Nhasa los hidroliza hasta unidades monoméricas.

Tabla 1. Características de crecimiento y bioquímicas evaluadas a la cepa C6.

CARACTERÍSTICAS			
DE CRECIMIENTO			
Intervalo de Temperatura (°C)		10 - 50	
Intervalo de Salinidad (% NaCl)		0 - 10	
Intervalo de pH		4 - 9	
BIOQUÍMICAS			
Catalasa	+	Utilización de Citratos	-
Oxidasa	-	Licuefacción de Gelatina	+
Movilidad	+	Hidrólisis de Almidón	-
O/F de glucosa	F	Hidrólisis de Caseína	+
Reducción de nitratos	+	Hidrólisis de Tween 80	-

*Resultados: (+) positivo, (-) negativo, (F) metabolismo fermentativo

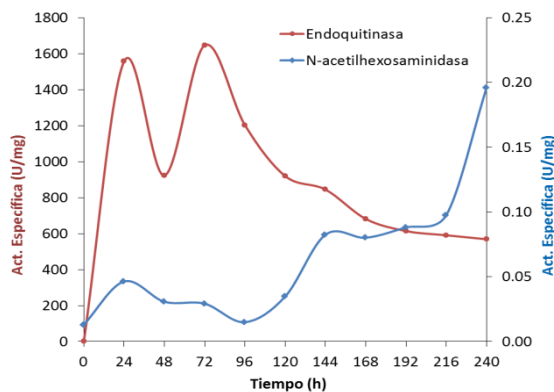


Fig. 1. Cinética de actividad quitinolítica producida por la cepa C6 en medio líquido.

En la **Figura 2** se muestra el perfil electroforético y la actividad en gel utilizando como sustratos glicol quitina y 4-MUF-*N*-acetilglucosamina, presentando bandas de actividad a los 120 y 63 kDa, respectivamente.

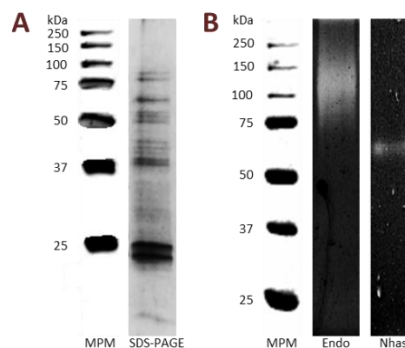


Fig. 2. A) Perfil electroforético y B) Actividad endoquitinasa y *N*-acetilhexosaminidasa en gel.

Conclusiones. La cepa C6 es capaz de producir ambos tipos de quitinasas. Además, los amplios intervalos de temperatura, pH, y salinidad en los que crece la bacteria la hacen atractiva para la industria.

Bibliografía.

- (1) Hamid, R., et al. (2013). *J Pharm Bioall Sci*, 5(1):21-29.
- (2) Sastoque, L., et al. (2007). *Rev Mex Ing Quím*, 6:137-46.
- (3) Bradford, M.M. (1976). *Anal Biochem*, 7(72):248-54.
- (4) Coudron, T.A. et al. (1984). *Comp Biochem Physiol*, 79B(3):339-48.
- (5) Laemmli, U.K. (1970). *Nature*, 227(5259):680-85.
- (6) Tronsmo, A. y Harman, G. (1993). *Anal Biochem*, 208:74-79.

