

## INMOVILIZACIÓN DE PROTEASAS COMERCIALES EN SUPERFICIES DE ACERO INOXIDABLE PARA LA PRODUCCIÓN DE SABORES LÁCTEOS.

Armando Melgarejo Mancilla<sup>1</sup>; Monserrat Escamilla García<sup>1</sup>, Aldo Amaro Reyes<sup>1</sup>, Carlos Regalado González<sup>1</sup>.

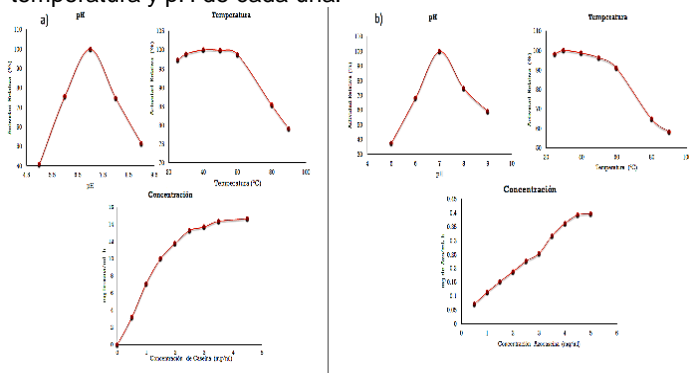
<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Querétaro. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. C.U., Cerro de las Campanas S/N, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Qro. Correo: [armamel1@hotmail.com](mailto:armamel1@hotmail.com).

*Palabras clave: Enzimas, Inmovilización, Quitosano*

**Introducción.** Una enzima es un catalizador biológico que llevan a cabo reacciones bioquímicas para acelerar el proceso de catálisis [1]. Las enzimas libres presentan susceptibilidad a los cambios de factores en los procesos biotecnológicos, por lo que la solución a estas limitaciones es la inmovilización enzimática [2]. El uso de polímeros naturales y compuestos inorgánicos como matrices de inmovilización presentan características diversas, dejando una amplia área de investigación para la comprensión y caracterización de estas matrices. Los soportes inorgánicos no son las matrices predilectas para la inmovilización de enzimas debido a su complejidad y requerimiento de mayores características que los soportes orgánicos, como la porosidad y permeabilidad de estas matrices [3]. El objetivo del presente trabajo es estudiar las interacciones necesarias para la inmovilización de enzimas en superficies de acero, así como identificar las condiciones para aumentar la actividad enzimática.

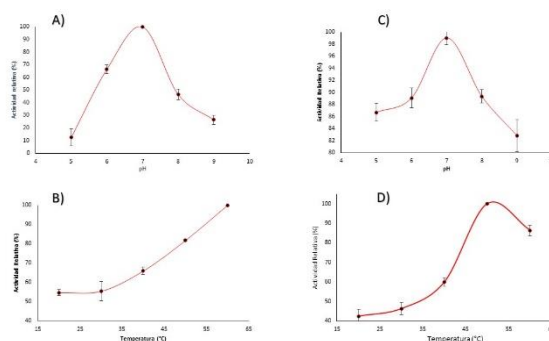
**Metodología.** Se inmovilizaron dos proteasas comerciales, Proteasa 1 (P1) y Proteasa 2 (P2), en superficies de acero inoxidable, utilizando como soporte orgánico quitosano mediante el entrecruzamiento con genipino. El grado de inmovilización se evaluó mediante cuantificación de proteína utilizando el método de Bradford. La actividad enzimática se determinó utilizando como sustrato una solución de hemoglobina, midiendo absorbancia a 750 nm. La actividad enzimática se evaluó en enzima libre como en la enzima inmovilizada a diferentes pH, temperatura y tiempo de incubación para determinar los parámetros cinéticos y condiciones óptimas de operación.

**Resultados.** En la Fig. 1a se muestran las condiciones óptimas de pH y temperatura para llevar a cabo las cinéticas enzimáticas utilizando P1, siendo el pH, temperatura y concentración óptimos, 7, 40 °C y 4.5 mg/ mL respectivamente. Mientras que para P2 (Fig. 1b), presenta una mayor actividad a 30 °C, pH 7 y una concentración de 5 mg/ mL. Presentando la misma actividad relativa para ambas enzimas en las condiciones óptimas de temperatura y pH de cada una.



**Fig. 1** Parámetros óptimos de operación: pH, temperatura y concentración. A) Proteasa 1, b) Proteasa 2.

En la Fig 2. Se ilustran las condiciones óptimas de las enzimas inmovilizadas P1 y P2. El pH óptimo se mantuvo neutro (pH=7) para ambas enzimas en el complejo de inmovilización. La estabilidad térmica se vio alterada en la inmovilización enzimática, las proteasas se mantienen estables en un rango de 50-60 °C



**Fig 2.** A) pH óptimo de proteasa Proteasa 2 inmovilizada. B) Temperatura óptima de P2 inmovilizada. C) pH óptimo de Proteasa 1 inmovilizada. D) Temperatura óptima de Proteasa 1 inmovilizada.

En el Cuadro 1 se enlistan los rendimientos de las dos enzimas en la superficie de acero inoxidable, siendo de 77.64% y 75.04% para Proteasa 1 y Proteasa 2 respectivamente.

Acero Inoxidable AISI 304	μmol Tirosina	Actividad proteolítica "U"	Rendimiento %	Actividad específica "U mg <sup>-1</sup> "
Proteasa 1 libre	143.63 ± 0.07	2.39 ± 0.07	100%	7.02 ± 0.07
Proteasa 1 Inmovilizada	38.69 ± 0.01	0.64 ± 0.01	77.64%	18.06 ± 0.01
Proteasa 2 libre	245.67 ± 0.05	4.10 ± 0.05	100%	9.87 ± 0.05
Proteasa 2 Inmovilizada	42.66 ± 0.03	0.71 ± 0.03	75.04%	10.92 ± 0.03

**Cuadro 1.** Actividad proteolítica de Proteasa 1 y Proteasa 2 en la superficie de acero inoxidable 304.

**Conclusiones.** Las condiciones óptimas de las dos enzimas son semejantes, por lo que se puede realizar la inmovilización de las dos enzimas bajo las mismas condiciones. Además, la estabilidad de la proteasa se mantiene en el complejo de inmovilización.

**Agradecimientos.** Proyecto PEI-CONACYT. Proyecto Foper UAQ.

### Bibliografía.

- Häring, Marleen. et al. (2018). Non-enzyme entrapping biogels in catalysis. Tetrahedron Letters, 59: 3293-3306.
- Zdarta, J., et al. (2017). Spongin-based scaffolds from Hippopongia communis demospone as an effective support for lipase immobilization. Catalysts, 147.
- Horchani, H. et al. (2012). Staphylococcal lipases: Biotechnological applications. J Molecular Cat B Enzyme, 76, 125-132.

