

PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR *Streptococcus infantarius*

Laura García-Curiel^b, Lorena Trejo-González^a, Adriana Inés Rodríguez-Hernández^a, Víctor Manuel Martínez-Juárez^a, Norberto Chavarría-Hernández^a Ma. del Rocío López-Cuellar^a,

^a Cuerpo Académico de Biotecnología Agroalimentaria, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, C.P. 43600, ga394835@uaeh.edu.mx

Palabras clave: bacteriocinas, *Streptococcus*, purificación

Introducción. Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos considerados potenciales agentes de control, eficaces contra patógenos microbianos alimentarios aún en bajas concentraciones (1). El objetivo de este trabajo fue producir, purificar y caracterizar péptidos antimicrobianos producidos por *Streptococcus infantarius* (2), para su potencial uso como bioconservadores en la industria de los alimentos y otras aplicaciones biotecnológicas.

Metodología. Se realizó la producción de los péptidos en medio MRS a nivel matraz (130 rpm, 30 °C) utilizando *L. monocytogenes* como microorganismo indicador de la actividad antimicrobiana. El método de purificación (3) consistió en: a) una doble precipitación con (NH₄)₂SO₄ y acetona, b) cromatografía de filtración en gel, c) RP-HPLC Agilent® 1260 Infinity (Phenomenex Ultramex 5 C18, 50 x 10mm), d) purificación en fase sólida (Oasis® MCX). La actividad antimicrobiana fue evaluada en cada uno de los pasos mediante dilución crítica (4), así como el efecto de la proteinasa K. La masa de los péptidos purificados se determinó mediante SDS-PAGE (5) y en el espectrómetro de masas XEVO G2-XS QTOF, Waters®, equipado con una fuente ESI Zspray en modo positivo.

Resultados. El extracto obtenido fue termorresistente (110 °C, 10 min) y presentó actividad antilisterial, la cual se concentró con cada uno de los pasos de purificación. En la purificación por RP-HPLC se obtuvieron 5 picos (Figura 1), de los cuales el pico 3 (18.8 min) y el pico 5 (32 min) exhibieron actividad antilisterial. Estas fracciones, perdieron completamente su actividad al ser incubadas con proteinasa K, lo que sugiere su naturaleza peptídica. El espectro de masas de la fracción 5 mostró en el tiempo de retención 12.261 min, la presencia de dos péptidos de masas 7243.56 y 7696.84 kDa. Estos pudieron identificarse mediante los iones, [M+3H]³⁺ (m/z 2414.5210), [M+2H]²⁺ (m/z 3621.7832); y [M+3H]³⁺ (m/z 2565.6355), [M+2H]²⁺ (m/z 3848.4211) respectivamente. El peso molecular estimado por SDS-PAGE se localizó entre 7 y 8 kDa, que coincide con los péptidos encontrados en el espectro de masas (Figura 2).

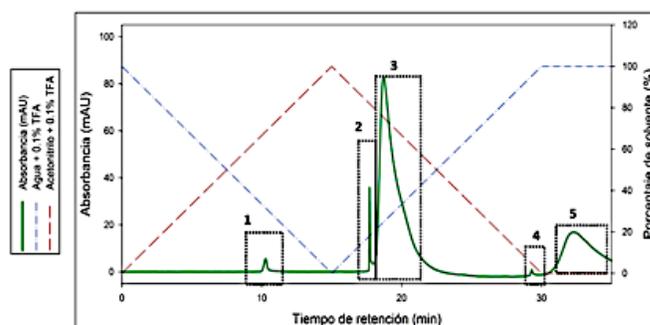


Fig. 1. Cromatograma RP-HPLC a 280 nm. Elución mediante un gradiente: A (Agua/0.1% TFA) y B (Acetonitrilo/0.1% TFA) a un flujo de 1 mL/min.

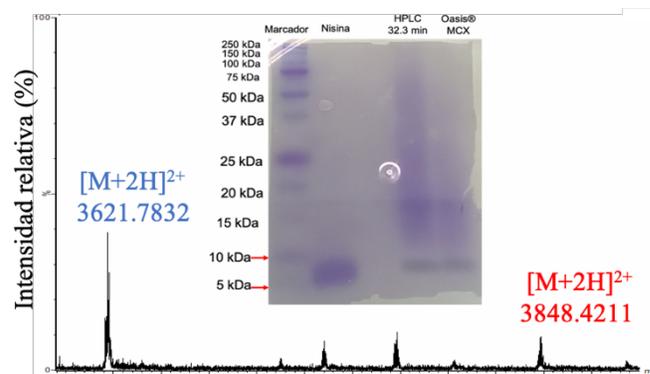


Fig. 2. Detección directa de la actividad antimicrobiana a partir de SDS-PAGE e identificación de iones [M+2H]²⁺ en espectrometría de masas.

Conclusiones. Se purificó un extracto antimicrobiano con sustancias tipo bacteriocina, a partir de un cultivo de *Streptococcus infantarius*. El peso molecular estimado por SDS-PAGE se localizó entre 7 y 8 kDa. Por espectrometría de masas se encontraron dos péptidos con masas de 7243.56 y 7696.84 kDa.

Agradecimientos. Beca CONACyT doctorado 700805 Dra. C. Wachter Rodarte y Dra. G. Díaz Ruíz, FQ-UNAM.

Bibliografía.

- Egan K et al. (2016) *Front. Microbiol.* 7(461):1-21
- Tavera-Montes, F.L. (2010). UNAM-Tesis Química de Alimentos
- Mimila-Méndez (2017). UAEH -Tesis de maestría
- Nuñez M et al. (1996) *Milchwissenschaft.* 51(1): 7-10.
- Sánchez-Reyes (2014). UAEH -Tesis de maestría