

Enzimas proteolíticas fúngicas: consideraciones sobre el aumento de su producción

Cavello I^{1,2}, Galarza B^{1,2}, Gortari MC¹, Cavalitto, S¹, Hours R¹, Cantera C²

- 1.- CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET). 50 y 115. (1900) La Plata
- 2.- Inti- Cueros; CICBA. Camino Centenario e/ 505 y 508. (1897) Manuel B. Gonnet
icavello@biotec.org.ar; betinagal@hotmail.com

Introducción y objetivos

El estudio sobre la producción de extractos enzimáticos con actividad proteolítico-queratinolítica aplicables a distintos procesos en la elaboración de cuero adquiere relevancia a partir de los requerimientos del medioambiente hacia una producción limpia. Es en este sentido que, a partir de screenings enzimáticos, se seleccionaron dos cepas fúngicas geofílicas, *Trichophyton ajelloi* y *Paecilomyces lilacinus* que, en estudios preliminares, demostraron tener actividad frente a diversos sustratos proteicos de origen queratínico.

El objetivo de este estudio es la evaluación sobre el crecimiento fúngico de: 1) acción de agentes reductores agregados tanto en medio sólido y líquido de *T. ajelloi* sobre la producción de enzimas queratinolíticas. 2) el rendimiento enzimático y proteico de *P. lilacinus* creciendo, también, en medio sólido y líquido.

Materiales y métodos

Se realizaron cultivos de *Trichophyton ajelloi* y *Paecilomyces lilacinus* en medio sólido (MS) y líquido (batch) (ML) utilizando como única fuente de C y N el "residuo pelo vacuno" (RP) proveniente de un depilado conservador del pelo. El medio mineral utilizado estaba compuesto por: buffer fosfato NaH₂PO₄-K₂HPO₄, cloranfenicol 0,5 g/l y cantidades traza de Cl₃Fe, Cl₂Zn y Cl₂Ca, pH 7. El RP fue previamente lavado, secado a 45°C, molido y autoclavado. Los medios fueron inoculados con 10⁵ ufc/ml.

En el caso de *T. ajelloi* se agregaron distintos agentes reductores en una concentración final de 5mM en cada sistema: 1) clorhidrato monohidrato de L-cisteína 2) tioglicolato de sodio 3) sulfito de sodio. Ambos medios se incubaron a 28°C, y en agitación en el caso del medio líquido. Se determinó el contenido proteico en µg/ml por el método de Bradford y la actividad azocaseinolítica de los extractos. Se definió la unidad de actividad azocaseinolítica como la cantidad de enzima que genera un aumento de 0,1 unidades de absorbancia _{440 nm} por minuto y por ml.

Resultados

En cuanto a *T. ajelloi*, al graficar concentración proteica vs días de cultivo, se observa que tanto en medio sólido como líquido los mayores valores se obtienen con el agregado de cisteína. En cuanto a la actividad azocaseinolítica, el tioglicolato en el ML produce un pico de actividad en el día 11, que supera 7 veces el producido por el medio mineral no adicionado, para ese mismo día.

Con respecto a *P. lilacinus*, la actividad azocaseinolítica desciende abruptamente en el ML a partir del 4º día de cultivo. Al mismo tiempo, la actividad azocaseinolítica específica fue superior en medio sólido que en el líquido en todas las muestras.

Conclusiones

El cultivo en medio sólido y el agregado de agentes reductores, en especial el tioglicolato, potencian la producción de enzimas queratinolíticas, aumentando sus posibilidades de utilización en los procesos de la elaboración del cuero, tales como

remojo, depilado y desencalado/rendido, así como en la degradación de residuos sólidos de curtiembre para la valorización de los mismos. Asimismo, las enzimas con actividad queratinolíticas pueden tener aplicación en la industria textil y alimenticia.