

S2.20. Agua de papa como subproducto industrial para la producción de enzimas fibrinolíticas fúngicas de *Bionectria* sp. LY 4.1 en cultivo sumergido

Florencia Cecilia Caro¹, Osvaldo Daniel Delgado^{2,3}, Julia Inés Fariña^{1,3}

¹ PROIMI-CONICET, Avenida Belgrano y Pje Caseros, CP 4000, San Miguel de Tucumán, Argentina

² CITCA-CONICET, Prado 366, CP 4700, San Fernando del valle de Catamarca, Argentina

³ FACEN-UNCA, Avenida Belgrano 300, CP 4700, San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina

Contacto: florcecaro@gmail.com

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte humana en el mundo. En los sistemas biológicos normales, coagulación y fibrinólisis están balanceadas, pero existen patologías que alteran este equilibrio pudiendo generar una trombosis. Aunque t-PA y urokinasa son los agentes trombolíticos actualmente más utilizados, existen otras terapias enzimáticas alternativas (estreptoquinasa, estafilokinasa, etc.) y la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas es cada vez más frecuente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción a escala biorreactor de enzimas fibrinolíticas por cultivo sumergido con *Bionectria* sp. LY 4.1 a partir de subproductos agroindustriales. Se estudió la producción de enzimas fibrinolíticas con sustratos como alperujo, melaza y agua de papa, bajo iguales condiciones operativas, comparándolas luego con el medio optimizado (MOPT; medio control). La actividad fibrinolítica observada para agua de papa (3403 ± 125 UEP/ml) fue similar a la del MOPT (3523 ± 79 UEP/ml), y superior a la obtenida con alperujo y melaza (2793 ± 141 UEP/ml y 1838 ± 121 UEP/ml). Los resultados obtenidos indican una producción de enzimas fibrinolíticas semejante al MOPT en un medio formulado en base a agua de papa, encontrando así un sustrato alternativo y menos costoso.

Palabras clave: Enzimas fibrinolíticas; *Bionectria* sp; Subproductos agroindustriales.

1. Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales contribuciones a las causas de muerte del hombre en el mundo. La fibrina es la principal proteína componente de los coágulos en la sangre y se forma fisiológicamente a partir de fibrinógeno por acción catalítica de la trombina. Durante la fibrinólisis, la malla de fibrina insoluble, es hidrolizada en productos de degradación de fibrina por acción de la plasmina. En un sistema biológico normal, existe un balance entre la formación de coágulos de fibrina y la fibrinólisis; sin embargo, cuando la fibrina no es hidrolizada, por cualquier algún otro desorden hemostático, se desencadena una trombosis. Aunque t-PA y urokinasa son aún la terapia trombolítica de elección actual, tienen mayores desventajas tales como los altos costos, reacciones alérgicas y riesgo de hemorragia cuando se administran por vía oral. En la medicina actual, las terapias enzimáticas son cada vez más frecuentes y fundamentan numerosas investigaciones para mejorar la eficacia y la especificidad de la terapia fibrinolítica [Rovati, 2011].

Previamente se evaluó el uso de sustratos alternativos provenientes del sector agroindustrial para la producción a escala Erlenmeyer de enzimas fibrinolíticas por cultivo sumergido con el hongo filamentoso *Bionectria* sp. LY 4.1 a fin de obtener valores competitivos con sustratos como alperujo, agua de papa (proveniente de la industria de producción de papas fritas) y melaza de caña de azúcar. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción a escala biorreactor de estos subproductos agroindustriales y compararlos con la producción obtenida con el medio optimizado (MOPT; medio control) [Arnau, 2010]

2. Metodología

Los inóculos fueron preparados a partir del micelio activo en placa de *Bionectria* sp LY 4.1 (7 días a 25 °C en CZM), homogeneizando tacos cubiertos de micelio en el medio líquido CZM (10 %) colocados en Erlenmeyers con un 20 % máx. como volumen de trabajo. Los inóculos fueron crecidos en agitador rotatorio a 250 rpm y 25 °C. Para la producción en biorreactor se utilizó un volumen final de trabajo de 2 l con los diferentes medios de cultivo utilizando alperujo, agua de papa o melaza de caña de azúcar (todos estos con concentraciones de proteínas y azúcares reductores equivalentes al del medio MOPT, suplementados todos con NaCl, MgSO₄ y KH₂PO₄). Las fermentaciones se llevaron a cabo en un reactor instrumentado New Brunswick BioFlo/CelliGen 115 con un vaso equipado con 4 rompecorrientes y 2 turbinas Rushton con 6 paletas. El período de fermentación fue de 144 h. Para cada uno de los medios estudiados, se mantuvieron constantes las condiciones operativas de agitación (200 rpm), temperatura (25 °C), pH (8,0; controlado con NaOH 1 N), y aireación (1,5 vvm) (condiciones previamente estandarizadas para el medio MOPT). Se midió la actividad fibrinolítica producida tomando muestras

cada 12 h y cuantificando dicha actividad mediante el uso de placas de fibrina y utilizando una curva de estándar de plasmina [Astrup & Mullertz, 1952].

3. Resultados

Cuando se utilizó agua de papa para formular el medio de cultivo, se obtuvo una actividad enzimática de 3403 ± 125 UEP/ml, valor semejante al del MOPT (3523 ± 79 UEP/ml). Por otra parte cuando se utilizó el alperujo como medio de cultivo se obtuvo una actividad de 2793 ± 141 UEP/ml, mientras que con melaza de caña de azúcar la producción enzimática alcanzó 1838 ± 121 UEP/ml. Los resultados obtenidos indicaron que la actividad fibrinolítica producida por el medio de cultivo con agua de papa no fue significativamente menor que la del medio MOPT (nivel de significancia del 0,5 %). Distintamente, con los medios que contenían alperujo y melaza de caña de azúcar se observó diferencia significativamente inferior respecto al medio control.

Hasta el presente, algunos subproductos industriales han sido utilizados para la producción de enzimas fibrinolíticas, siendo el criterio de selección para el uso de un sustrato alternativo principalmente el costo y la disponibilidad del mismo. En este caso, el agua de papa podría ser considerado un sustrato alternativo promisorio, al ser un insumo de fácil acceso y de muy bajo costo, el que además es normalmente es descartado generando contaminación ambiental.

4. Conclusiones

Los resultados de este trabajo sientan las bases para la producción de enzimas fibrinolíticas a partir del hongo filamentoso *Bionectria* sp. LY 4.1, utilizando un subproducto industrial como ser el agua de papa para formular el medio de cultivo, permitiendo así la reutilización y revalorización del mismo y evitando su disposición en el medio ambiente. El empleo de este derivado incluso permitiría vislumbrar un proceso sostenible de producción de enzimas fibrinolíticas con menores costos de producción.

5. Bibliografía

- Arnau V.G. (2010). *Optimización del medio de cultivo de Bionectria sp. para la producción de enzimas fibrinolíticas*. Tesis de Grado UNT.
- Astrup T, Mullertz S (1952). The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 40: 346-351.
- Rovati JI (2011). *Biología de enzimas fibrinolíticas de origen fúngico potencialmente aplicable en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares*. Tesis Doctoral UNT.