



EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA α -L-FUCOSIDASA DE *THERMOTOGA MARITIMA* Y EN LA SÍNTESIS DE FUCO-OLIGOSACÁRIDOS

Mónica Robles-Arias, Sergio Alatorre-Santamaría, Francisco Guzmán-Rodríguez, Lorena Gómez-Ruiz, Gabriela Rodríguez-Serrano, Mariano García-Garibay, Alma Cruz-Guerrero.

Dpto. de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. C.P. 09340. C.P. 52006. E-mail: mroblesarias@xanum.uam.mx

Palabras clave: Fuco-oligosacáridos, α -L-fucosidasa, *Thermotoga maritima*.

Introducción. Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) están formados por el disacárido lactosa al que se unen unidades de D-glucosa, D-galactosa, ácido siálico, L-fucosa y N-acetilglucosamina (1). Los fuco-oligosacáridos (FUCOS) son los OLH más abundantes al encontrarse en una concentración de 2.43 ± 0.26 g/L (2); además aportan beneficios a la salud de los recién nacidos al ejercer efecto prebiótico, ayudar al desarrollo del cerebro, contra patógenos, etc. (3). Los FUCOS pueden ser sintetizados enzimáticamente mediante α -L-fucosidasas (E.C. 3.2.1.51) las cuales son exo-glicosidasas que presentan doble actividad catalítica, hidrólisis y transferencia, donde la selectividad de la enzima está determinada por el medio de reacción (4).

El objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto de la temperatura en la actividad hidrolítica de la α -L-fucosidasa de *Thermotoga maritima* y en la síntesis de FUCOS.

Metodología. El efecto de la temperatura en la actividad hidrolítica se cuantificó a 50-95 °C, empleando 4-nitrofenil α -L-fucopiranosido (pNP-Fuc) 3.5 mM en buffer de fosfatos (0.1 M pH 8) y 0.0065 U/ml de α -L-fucosidasa de *T. maritima*. La actividad se midió espectrofotométricamente por la liberación de pNP a 410 nm.

El efecto de la temperatura sobre la síntesis de FUCOS se determinó empleando pNP-Fuc 3.5 mM, lactosa 438 mM en buffer de fosfatos (0.1 M pH 8) y 0.0065 U/ml de α -L-fucosidasa de *T. maritima*. La reacción se incubó a 60-90 °C por 10-60 minutos y agitación orbital constante. La actividad hidrolítica se midió por la liberación de pNP a 410 nm y los FUCOS sintetizados se cuantificaron por HPLC.

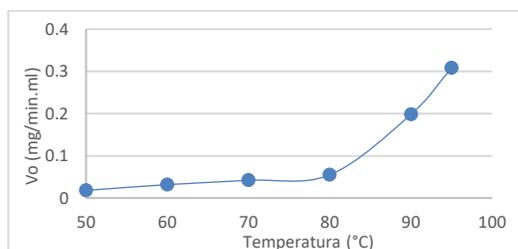


Fig. 1. Efecto de la temperatura en la actividad hidrolítica de α -L-fucosidasa.

Resultados. Es conocido que la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se incrementa con la temperatura en el intervalo en que la enzima es estable y permanece activa.

En la **Fig. 1** se observa que al incrementar la temperatura aumenta la actividad hidrolítica de la α -L-fucosidasa de *T. maritima* presentando la máxima actividad a 95 °C. En la **Fig. 2** se muestra que al aumentar la temperatura se sintetiza una mayor concentración de FUCOS. El incremento de la temperatura de 60 a 90 °C permitió aumentar la síntesis de 0.37 a 0.76 mM. Resultados similares fueron obtenidos por Warmerdam *et al* (5) quienes al emplear una β -galactosidasa de *Bacillus circulans* y elevar la temperatura de 25 a 60 °C incrementaron la síntesis de galacto-oligosacáridos de 25 a 100 g/L respectivamente.

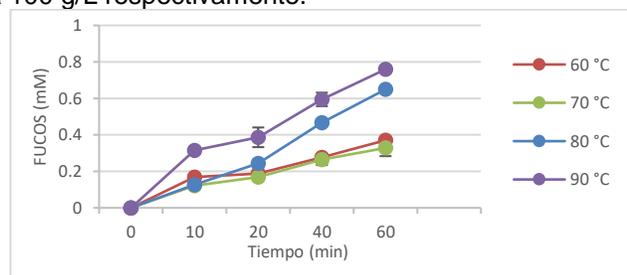


Fig. 2. Efecto de la temperatura en la síntesis de FUCOS.

Conclusiones. A mayor temperatura se sintetizó una mayor concentración de FUCOS, coincidiendo con la mayor actividad enzimática.

Agradecimientos. Esta investigación se realizó gracias al apoyo de CONACyT.

Bibliografía.

- Gudiel-Urbano M. & Goñi I. (2001). *Arch. Latinoam. Nutr.* 51:332-339.
- Rudloff S. & Kunz C. (2013) *Adv. Nutr.* 3:398S-405S.
- Bode, L. (2015). *Early Hum. Dev.* 91:619-622.
- Sulzenbacher G. *et al.* (2004). *J. Biol. Chem.* 279:13119-13128.
- Warmerdam A. *et al.* (2013). *J. Agric. Food Chem.* 61: 6458-6464.

