

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD HIDROLÍTICA Y SINTÉTICA DE FITASA DE *ASPERGILLUS NIGER* EN MEDIO ACUOSO Y SINTÉTICO

María del Carmen de Ruesga Valdivia, Gerardo Valerio Alfaro, Rosa María Oliart Ross, Arturo Navarro Ocaña, Teresa Hernández. Correspondencia: Av. 1 # 228 Col. Centro, Huatusco, Ver. C.P. 94100, Fax.(273)7341992. correo electrónico: mruesgav@yahoo.com.mx

Palabras clave: *fitasa, biocatálisis, biotransformación.*

Introducción. Las enzimas presentan un gran potencial como catalizadores y son una alternativa para la química sintética en el campo de las biotransformaciones, las cuales son reacciones químicas llevadas a cabo por microorganismos o catalizadas por enzimas dando lugar a la transformación selectiva de un sustrato. Las fitasas son enzimas que pertenecen a las hidrolasas (fosfatasas ácidas histidínicas) cuyo sustrato natural es el fitato. Estas se agrupan de acuerdo a la posición específica del grupo éster fosfato en el que se inicia la hidrólisis; se utilizan principalmente como aditivo en alimentos de animales para elevar el valor nutricional y para la biorremediación de suelos y aguas en la remoción de fósforo orgánico. Así mismo se han purificado y caracterizado fitasas de diversas fuentes: microorganismos, hongos y tejidos vegetales(1). Por otro lado se han realizado diversos estudios sobre los mecanismos de desfosforilación de algunas fitasas, con el sustrato natural, para obtener productos de interés en la industria biotecnológica (farmacéutica y alimentaria), como inositoles di, tri y tetrafosfatados, que comúnmente se producen por métodos químicos convencionales en pequeñas cantidades y a costos elevados. Existen también reportes en los que se utilizan sustratos diferentes al ácido fítico para la obtención de bloques de construcción quirales en la síntesis de productos de valor agregado para las industrias citadas(2,3).

Metodología. La extracción del producto de fermentación sólida de *A. niger*, utilizado como biocatalizador, fue realizado mediante un proceso de trituración, filtración y liofilización. El seguimiento de las reacciones de fosforilación y desfosforilación se realizó mediante la medición del fosfato liberado (3) y RMN de ³¹P, y la determinación estructural de los productos mediante las técnicas de RMN de ¹³C, ¹H y ³¹P. La estereoselectividad fue estimada por rotación óptica. Se realizaron biorreacciones catalizadas por fitasa de *A. Níger* de ácido fítico y ATP en medio acuoso y orgánico (glicerol-agua 1:1; glicerol-isopropanol 1:1) Fig. 1.

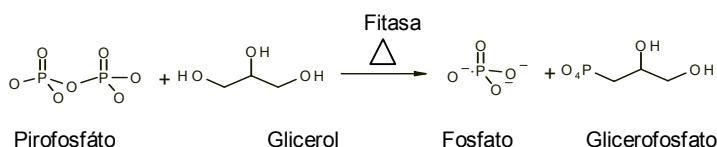


Fig 1. Descripción general de la síntesis de glicerofosfato

Resultados y discusión. Se obtuvo hidrólisis completa en medio acuoso, utilizando como disolvente glicerol:agua (1:1) de 25.4% y 18.9% para ATP (Adenosin trifosfato) y ácido fítico, respectivamente, y con el disolvente glicerol-isopropanol los valores obtenidos fueron de 11.30% y 14.7%, en el mismo orden. Así mismo, se llevó a cabo la hidrólisis de pirofosfato en diferentes disolventes teniendo como porcentajes de conversión del 17% en dioxano al 30% acuoso, del 100% en agua y 100% en dimetilsulfóxido al 30% acuoso. Por otro lado la fitasa mostró la síntesis de fosfato de 1-glicerofosfato con ATP en medio orgánico glicerol:agua (1:1). Fig. 2.

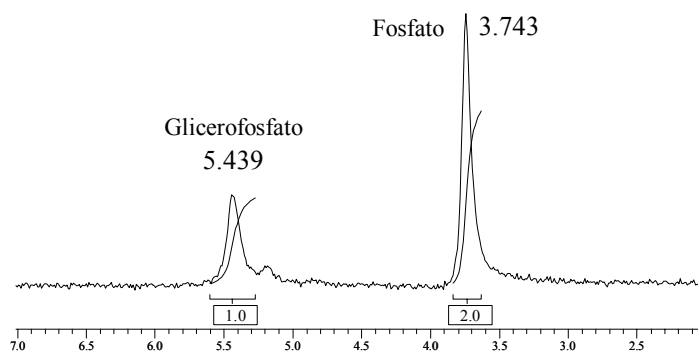


Fig. 2. Espectro de RMN de ³¹P de la biorreacción de glicerol y ATP en medio glicerol-agua 1:1 a las 36 hrs.

Conclusiones. La fitasa de *A. niger* presenta actividad hidrolítica para el fitato de sodio y ATP en medio orgánico (isopropanol-glicerol 1:1), (glicerol-agua 1:1) y para pirofosfato en dioxano y dimetilsulfóxido al 30% (v/v)) en glicerol así como actividad sintética de glicerofosfato en medio glicerol-agua 1:1. El mejor disolvente para la hidrólisis del pirofosfato (además del agua) es el dimetilsulfóxido al 30% en glicerol.

Bibliografía.

1. Pandey A., Szakacs G., Soccol C., Rodriguez-León J., y Zoclo T. (2001), Production, purification and properties of microbial phytases. *Bioresource Technology*. 77:203-214.
2. Pradines A, Klæbe, J., Perié, F., P. Monsan. (1988), Enzymatic synthesis of Phosphoric monoesters with alkaline phosphatase in reverse hydrolysis conditions. *Tetrahedron*. 44(20):6373-6386.
3. Sheldon R., Schoevaart R. y Van Rantwijk F. (2000), A Four-Step Enzymatic Cascade for the One-Pot synthesis of Non-natural Carbohydrates from Glycerol. *JOC*. 65: 6940-6943.