

Detección y caracterización bioquímica de actividad pectinolítica en *Bacillus popilliae*.

Vanessa Vallejo Becerra, Alejandro Santiago Hernández, María Eugenia Hidalgo Lara

*a*Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, D.F. CP 07360, México. ehidalgo@cinvestav.mx

Palabras clave: ácido poligalacturónico, pectina, liasas

Introducción. La pectina es un polisacárido que se encuentra en la lámina media de la pared celular de las plantas y contribuye en la forma y estructura de las plantas. La degradación de las pectinas involucra una compleja combinación de enzimas pectinolíticas dentro de las cuales se distinguen dos grupos: las pectinesterasas, las cuales remueven los grupos metoxil, y las despolimerasas (hidrolasas y liasas) que degradan la cadena principal. Las pectinasas son enzimas de interés industrial ya que son ampliamente utilizadas para la clarificación de jugos y vinos. Las pectinasas alcalinas son usadas en la industria textilera, para el enriado del lino y el decrudado del algodón. Actualmente, existe un gran interés en el estudio de pectinasas provenientes de sistemas microbianos.

El modelo de estudio en este trabajo es *Bacillus popilliae*, esta cepa ha sido estudiada para otras aplicaciones biotecnológicas como biopesticia. Sin embargo, se desconocía hasta el momento su actividad pectinolítica, la cual está siendo caracterizada y se sabe al momento que presenta enzimas pectinolíticas con actividad liasa que actúan sobre dos distintos sustratos.

Metodología. Se estandarizaron las condiciones óptimas de crecimiento (30°C, 200rev/min, 24 h) utilizando como medio de cultivo caldo nutritivo, suplementado con distintas fuentes de carbono para determinar la mejor actividad pectinolítica (1). La actividad liasa se determinó valorando la formación de productos insaturados a partir del ácido poligalacturónico (actividad pectato liasa) o a partir de pectina de distintos grados de metilación (actividad pectina liasa) a 235 nm mediante ensayo espectrofotométrico (2). La mezcla de reacción contenía 1.5 ml de 0.1% de sustrato en una solución amortiguadora con el pH adecuado, se incubó durante 1 min a 55°C y posteriormente se adicionó 1.5 ml de agua. Una unidad de actividad fue definida como la cantidad de enzima necesaria para causar un incremento de 1 en la absorbancia.

Resultados y discusión. La producción de la pectinasa fue evaluada utilizando distintas fuentes de carbono al 1%, adicionadas en el medio de cultivo, tales como: glucosa, pectina y ácido poligalacturónico. Se observó un incremento de la actividad en el medio adicionado con pectina (Fig. 1).

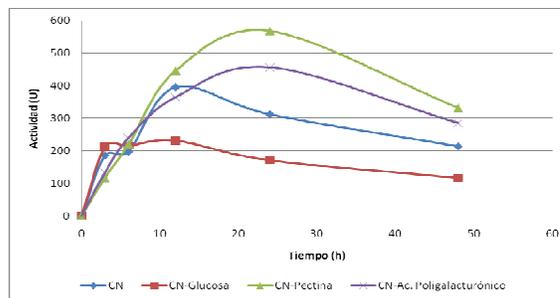


Fig. 1. Actividad pectinolítica de *B. popilliae* utilizando distintas fuentes de carbono en el medio de cultivo.

La actividad liasa se determinó utilizando dos distintos pH (8 y 11) ya que fueron estos los óptimos al analizar el extracto crudo (datos no mostrados) y se observó que *Bacillus popilliae* presenta actividad pectina liasa y pectato liasa. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Actividad liasa.

Actividad	Actividad (U) pH 11	Actividad (U) pH8
Pectina liasa	119.78±.011	337.93±.03
Pectato liasa	160.65±.044	134.45±.016

Conclusiones. La cepa *B. popilliae* presenta dos máximos de actividad pectinolítica, a pH 8 y a pH 11. Esta actividad es inducible y el mejor inductor probado es la pectina; mientras que esta actividad se vio afectada negativamente en presencia de glucosa como fuente de carbono. La caracterización de la actividad pectinolítica del extracto crudo nos sugiere que *B. popilliae* produce y secreta al menos dos pectinasas alcalinas.

Agradecimiento. A CONACYT por el apoyo prestado para la realización de este trabajo.

Bibliografía. (1) Soriano M., D. P. (2006). Pectinolytic systems of two aerobic sporogenous bacterial strains with high activity on pectin. *Current Microbiology*, 114-118.

(2) Kashyap D.R., C. S. (2000). Production, purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16:277-282.



Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



VII Simposio Internacional de
Producción de Alcoholes y Levaduras