

PROPIEDADES CATALITICAS DE UNA TANASA FUNGICA INTRACELULAR INMOVILIZADA EN MICROPARTICULAS DE ALGINATO

Flores-Maltos D.A., Mata-Gómez M.A., Renovato-Nuñez J., Rodríguez R., Aguilar C.N.*,

Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. 25280, Saltillo, Coahuila, México. *Correo electrónico: cristobal.aguilar@mail.uadec.mx

Palabras clave: inmovilización, tanasa, *Aspergillus niger* GH1

Introducción. La enzima tanasa (EC 3.1.1.20) hidroliza la molécula de los taninos por su actividad esterasa, produciendo glucosa y ácido gálico, precursor de aplicación en la industria farmacéutica en la síntesis química del trimetoprim, que es un potente antibiótico de alto espectro y un antioxidante de alto interés en la industria alimentaria (Belmares-Cerda y col., 2003). La enzima tanasa generalmente se obtiene a partir de fuentes vegetales, animales y microbianas, siendo esta última la más importante, ya que las enzimas producidas por dicha vía son más estables que sus análogas que se obtienen por otras fuentes (Belmares-Cerda y col., 2004). El objetivo principal del presente trabajo fue el estudio de la producción de tanasa intracelular en cultivo sumergido y su posterior inmovilización en alginato de calcio, además del empleo de la tanasa libre e inmovilizada en la producción de ácido gálico evaluando diferentes sustratos.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Microorganismo, inóculo y condiciones de cultivo. Se trabajó con esporas de *Aspergillus niger* GH1 (colección UAdeC-DIA). Se realizó un cultivo sumergido con en el medio líquido Czapek Dox modificado (Aguilar, 2000). La solución se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121 °C, se adicionó 12.5 g/L de ácido tánico como única fuente de carbono ajustando pH a 5.5. El medio líquido se inóculó con la suspensión de esporas a 1×10^7 esporas/mL e incubando a 30 °C por 24 horas a una agitación de 250 rpm. **Extracción y purificación parcial.** El extracto crudo enzimático se obtuvo mediante la maceración de la biomasa recolectada del cultivo sumergido y recuperado con buffer de acetatos 100 mM y pH 5.5. El extracto se llevó a una diálisis en membrana de celulosa para su posterior concentración con polietilenglicol 6000, el extracto dializado y concentrado se sometió a una permeación en gel en columna de desalado G25 y obteniéndose así una actividad específica de 39.56 U/mg. La enzima parcialmente purificada se inmovilizó en micro-partículas de alginato de sodio al

2 % como soporte para finalmente llevar a cabo un análisis de la cinética enzimática para determinar los parámetros K_M y V_{Max} a la enzima libre e inmovilizada, sobre metil galato y heptagalato. Los resultados demostraron un efecto negativo de la inmovilización sobre la catálisis de la tanasa. La Figura 1 presenta el efecto de la concentración de metil galato sobre la velocidad de reacción de la enzima.

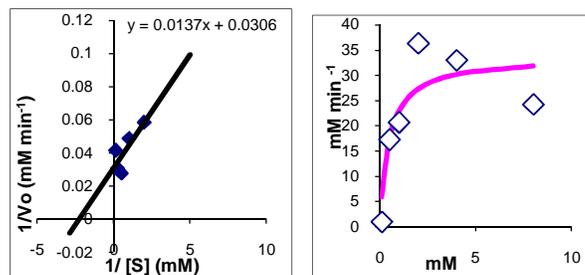


Figura 1. Enzima libre-metilgalato

Conclusiones. Se demostró que es posible obtener un extracto enzimático crudo por cultivo sumergido con una actividad volumétrica alta de 288.59 U/L y una significativa actividad específica 39.56 U/mg. La estrategia de purificación permitió un incremento de 5 veces más la actividad específica. El sistema libre presentó mayor afinidad por el metil galato 0.4 mM. Mientras que el sistema inmovilizado mostró similitud en la afinidad por ambos sustratos, siendo ligeramente mayor para el metil galato 0.905mM

Bibliografía. 1.- Belmares Cerda R., Reyes Vega M.L., Contreras Esquivel J.C., Rodríguez Herrera R. y Aguilar C.N. (2003). Efecto de la fuente de carbono sobre la producción de tanasa en dos cepas de *Aspergillus niger*. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 2: 95-100.
2.- Belmares R., Contreras-Esquivel J.C., Rodríguez-Herrera R., Ramírez Coronel A. and Aguilar C.N., (2004). Microbial production of tannase: an enzyme with potential use in food industry. Lebensm.-Wiss. U.-Technol. 37: 857-864.