



**PARÁMETROS CINÉTICOS Y TERMODINÁMICOS DE LA TANASA
PRODUCIDA POR *Aspergillus niger* GH 1 EN CULTIVO SÓLIDO**

Ramos E., Mata M., Belmáres R., Cruz M., Rodríguez R., Cristóbal Aguilar*.

Departamento de investigación en alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza y J. Cárdenas s/n, CP 25280. Fax.: +52 844 4159534, Saltillo, Coahuila, México. *e-mail: crystal.aguilar@mail.uadec.mx.

Palabras clave: *Tanasa*, *Aspergillus niger* GH1, *Parámetros termodinámicos*.

Introducción. La tanasa (EC. 3.1.1.20) es una enzima inducible producida por diversos microorganismos y cataliza la reacción de hidrólisis de los enlaces éster de taninos hidrolizables y ésteres del ácido gálico (1). La tanasa es usada como agente clarificante en algunos vinos y cervezas (2). Sin embargo, su mayor aplicación se encuentra en la síntesis de ácido gálico. Diversos hongos filamentosos del género *Aspergillus* han sido utilizados en la producción de tanasa. La producción de tanasa ha sido estudiada en fermentación en medio sólido (FMS) y sumergido (SmF); sin embargo, el rendimiento de producción de tanasa y la productividad son más altos en FMS que en SmF (1). Este trabajo describe los parámetros cinéticos y termodinámicos de la tanasa de *A. niger* GH1.

Metodología. La tanasa fue producida por la cepa de *A. niger* GH 1 en FMS usando espuma de poliuretano como soporte y ácido tánico (2.5%) como única fuente de carbono e inductor. Después, la enzima fue recuperada y purificada usando precipitación con acetona (1:1) y sulfato de amonio (60%). Posteriormente, la actividad tanasa y el contenido de proteína fueron determinados de acuerdo a lo descrito en literatura (1). La energía de activación (E_a) de la reacción y la influencia de la temperatura (20–65 °C) sobre el significado de las constantes cinéticas (K_M y k_{cat}), la eficiencia de hidrólisis (k_{cat}/K_M), ΔG , ΔH Y ΔS fueron determinadas usando metilgalato (MG) como sustrato (4.4 mM).

Resultados y discusión. Un sumario de las constantes

Cuadro 1. Influencia de la temperatura sobre los parámetros cinéticos de la tanasa de *A. niger* GH1 en la hidrólisis de MG.

Temperatura (° C)	K_M (mM)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_M (s ⁻¹ mM ⁻¹)
20	9,02	51,85	5,75
25	6,17	148,51	24,08
30	4,22	206,74	48,98
35	4,24	232,72	54,91
40	2,11	232,22	110,25
50	4,07	325,37	79,86
55	4,51	397,81	88,15
60	4,10	457,64	111,62
65	12,09	469,13	38,80

cinéticas (K_M y k_{cat}) y la eficiencia catalítica (k_{cat}/K_M) de la tanasa de *A. niger* GH1 es mostrado en el cuadro 1. En un estudio similar, la tanasa producida por *Verticillium* sp p9 exhibió valores de K_M y k_{cat} de 3.65 mM y 469.13 s⁻¹, respectivamente y una máxima eficiencia catalítica de 111.62 s⁻¹ mM⁻¹ usando metilgalato como sustrato (3). La E_a y los parámetros termodinámicos (ΔG , ΔH y ΔS) de la tanasa de *A. niger* GH1 (Cuadro 2) obtenidos en el presente trabajo fueron similares a los reportados para la tanasa de *Verticillium* sp p9 (3).

Tabla 2. E_a y efecto de la temperatura en los parámetros termodinámicos de la tanasa de *A. niger* GH1 sobre la hidrólisis de MG.

Temp. °C	ΔG (kJ K ⁻¹ mol ⁻¹)	E_a (kJ K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔH (kJ K ⁻¹ mol ⁻¹)	ΔS (kJ K ⁻¹ mol ⁻¹)
20	47,20	22,90	20,46	-160,95
25	42,49		20,42	-142,43
30	41,76		20,38	-137,68
35	42,22		20,34	-136,96
40	43,39		20,29	-138,49
50	43,61		20,21	-134,90
55	43,47		20,17	-132,42
60	43,69		20,13	-131,08
65	44,62		20,09	-131,90

Conclusiones. Los resultados sugieren que la tanasa de *A. niger* GH1 es una enzima atractiva para aplicaciones industriales debido a su capacidad catalítica y sus propiedades termodinámicas.

Agradecimiento. CONACYT.

Bibliografía.

- Mata-Gómez MA, Rodríguez LV, Ramos-Salas EL, Renovato J, Cruz-Hernández MA., Rodríguez R, Contreras JC and Aguilar CN. (2009). A novel tannase from the xerophilic fungus *Aspergillus niger* GH1. *J Microbiol Biotechnol* (in press).
- Lekha PK and Lonsane BK. (1994). Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *Aspergillus niger* PKL 104 in solid-state, liquid surface and submerged fermentations. *Proc Biochem* 29: 497–503.
- Kasieczka-Burnecka M, Kuc K, Kalinowska H, Knap M and Turkiewicz M. (2007). Purification and characterization of two cold-adapted extracellular tannin acyl hydrolases from an Antarctic strain *Verticillium* sp. P9. *Appl Microbiol Biotechnol* 77: 77-89.