



EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES PARA LA OBTENCIÓN DE α -L-FUCOSIDASA INTRACELULAR DE *Bifidobacterium longum*.

Jazmín Blas-Balderas, Sergio Alatorre-Santamaría¹, Lorena Gómez-Ruiz¹, Gabriela Rodríguez-Serrano¹, Mariano García-Garibay^{1,2} y Alma Cruz-Guerrero¹. ¹Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, ²Departamento de Ciencias de la Alimentación, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma. e-mail: aec@xanum.uam.mx

Palabras clave: oligosacáridos, *B. longum*, α -L-fucosidasa.

Introducción. El crecimiento selectivo de bifidobacterias en el intestino del infante se atribuye al uso de los oligosacáridos de la leche humana (OLH), que gracias a su compleja estructura son resistentes a la digestión (1). Las bifidobacterias y los OLH aportan grandes beneficios al hospedero, como la disminución de microorganismos patógenos en el tracto digestivo o la producción de ácidos orgánicos. Las bifidobacterias presentan α -L-fucosidasa, que bajo ciertas condiciones se pueden emplear para la síntesis de oligosacáridos fucosilados de la leche humana. La secuencia del genoma de *B. longum sp infantis* revela la existencia de cuatro posibles fucosidasas, todas ellas intracelulares (2). El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes condiciones de rompimiento mecánico de *B. longum* para liberar la fucosidasa.

Metodología. Se preparó una suspensión de *B. longum* a una concentración de 150 mg biomasa/mL. Se determinó la α -L-fucosidasa en células enteras empleando como sustrato *pnp*-fucosa (0.1 mg/mL), midiendo el *pnp* liberado a 410 nm. El tratamiento mecánico para la ruptura celular se realizó con perlas de vidrio de 0.1 mm de diámetro, utilizando el equipo MiniBeadBeater 1 (MBB) a 4800 rpm, modificando el número de ciclos de rompimiento celular. Cada ciclo constaba de un minuto y entre cada ciclo el tubo se enfriaba durante dos minutos. Al sobrenadante obtenido se le determinó la actividad de α -L-fucosidasa.

Resultados. En las figuras 1, 2 y 3 se muestran la comparación de las actividades específicas en células enteras y después del tratamiento de ruptura con perlas de vidrio. En la Fig. 1 se obtiene un rendimiento del 35.6 %, considerándolo bajo, para este caso se aplicaron 5 ciclos de un minuto, a excepción del primero que fue de dos minutos, teniendo un sobrecalentamiento en el tubo y en las células, atribuyendo a este factor la desnaturalización de la enzima.

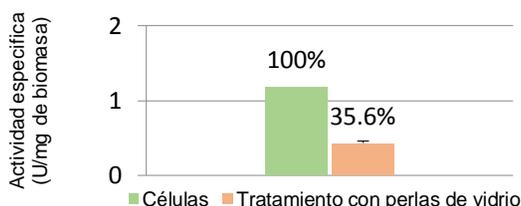


Fig. 1. Actividad específica en células y sobrenadantes después del tratamiento mecánico de *B. longum*

Modificando el tiempo de ruptura, un minuto por ciclo (5 ciclos), en la Fig. 2 se observa un aumento en la actividad enzimática, sin embargo su aumento no es considerable, atribuyendo la pérdida de actividad enzimática al calentamiento.

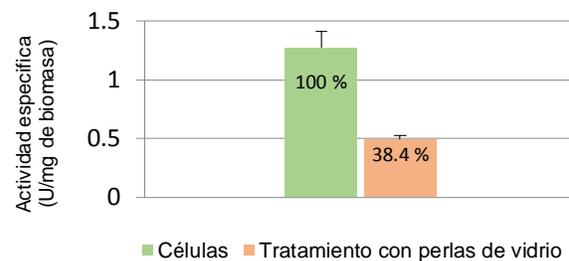


Fig. 2. Actividad específica en células y sobrenadantes después del tratamiento mecánico de *B. longum*

Finalmente en la Fig. 3 se observa un aumento en la actividad de la enzima, respecto a las dos anteriores, sólo que en este caso se redujeron el número de ciclos a 3 y el tiempo de enfriamiento entre ciclos a 2 minutos. El modificar estos parámetros contribuyó a obtener un mayor rendimiento en la actividad de la enzima α -L-fucosidasa, por lo que se confirma que el calentamiento que reciben las células durante el rompimiento celular es un factor de suma importancia para obtener la α -L-fucosidasa.

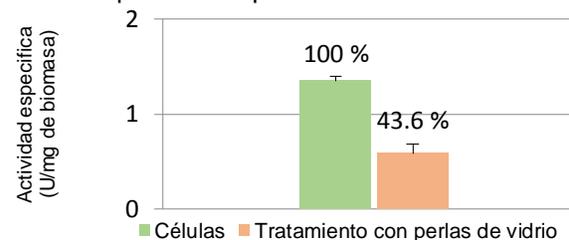


Fig. 3. Actividad específica en células y sobrenadantes después del tratamiento mecánico de *B. longum*

Conclusiones. El tratamiento con tres ciclos y dos minutos de enfriamiento fue más eficiente para la liberación de α -L-fucosidasa de *B. longum*.

1. Chichlowski, M., Bruce, J., Lebrilla, C., and Mills, D., (2011). *Annual Review of Food Science and Technology*. 2, pp 331-351.
2. Ashida, H., Miyake, A., Kiyohara, M., Wada, J., Yoshida, E., Kumagai, H., Katayama, T., Yamamoto, K., (2009). *Glycobiology*. 19 (9). pp 1010-1017.