



## EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN BIOTECNOLÓGICA DE XILANSA FUNGICA OBTENIDA A PARTIR DE UNA GRAMINEA AUTOCTONA ARGENTINA

Dana B. Loureiro<sup>1</sup>, Antonela Taddia<sup>1</sup>, Guillermo Pico<sup>1</sup>, María E. Taqueda<sup>2</sup>, Gisela Tubio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Dpto. de Tecnología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. IPROBYQ- CONICET, Rosario (CP 2000) Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica. Universidad de San Pablo, Brasil. gtubio@conicet.gov.ar.

*Palabras clave:* Xilanasas, *Spartina Argentinensis*, extracción líquido-líquido.

**Introducción.** Las xilanasas (xil) catalizan la degradación del xilano, y presentan interés biotecnológico ya que su empleo presenta ventajas respecto a los procesos industriales convencionales por la elevada eficiencia, bajo impacto medioambiental y por la mejor rentabilidad económica. Producidas por una gran cantidad de hongos, las xil, suponen un potencial biotecnológico aplicable en el ámbito de las tecnologías sustentables dándose lugar a procesos de producción alternativos con un mínimo impacto ambiental. La extracción utilizando sistemas bifásicos acuosos (ESBAs) es una herramienta que con alta capacidad resolutive permite la clarificación, purificación y concentración de proteínas en una sola etapa. El objetivo de este trabajo fue optimizar la ESBA, de Xil de *Aspergillus Níger* obtenida en medios de cultivo líquido, cuando se emplea *Spartina argentinensis* como única fuente de carbono.

**Metodología.** Las conideas de *A. niger* se inocularon, a concentración final de  $10^6$  esporas/mL, en medio líquido conteniendo hojas verdes trituradas de *S. argentinensis*. El cultivo, se filtró y el sobrenadante fue empleado como fuente natural de Xil. La actividad Xil y celulasa (Cel), y proteínas totales (PT) se determinaron por el método de Bailey (1) y ácido bicinconínico (2) respectivamente. Los SBAs polímero-sal se prepararon con polietilenglicol (PEG) y citrato de sodio (NaCit), pH 5,20 y 22°C (3). Se calculó el coeficiente de reparto (Kr) de xil, cel y PT, el rendimiento (R%), factor de purificación (FP) y balance de masa (BM) en cada fase. El diseño experimental se realizó con el programa Minitab16 empleando un diseño factorial completo con tres factores a dos niveles (2<sup>3</sup>): PM PEG (1000 y 4600), concentración total del SBA (menor, mayor), fuerza iónica (FI) (sin NaCl, 8,0 %P/P).

**Resultados.** En todos los experimentos ensayados  $Kr_{xil}$  fue mayor a la unidad indicando una alta distribución de la enzima hacia la fase superior rica en PEG (tabla 1). La significancia de los efectos principales y de sus interacciones fueron estimados por medio del test de Student y los valores de probabilidad con un nivel de significancia del 5%. Para llevar a cabo el análisis y el ajuste del modelo, se aplicó análisis de la variancia (ANOVA) que se corroboró por el test de Fisher. Del análisis, se observa que las condiciones más adecuadas para maximizar las respuestas del proceso extractivo son: PMPEG y FI media, y la mayor composición del

SBA, eliminando de este modo la interacción entre el PMPEG y FI. De este modo, las condiciones óptimas de extracción corresponderían a un SBA formado por PEG2000, 4%NaCl. Los resultados obtenidos permitieron obtener xil en fase superior ( $Kr=2,06$ ) con  $R\%=63\%$  y  $FP=6,36$ , siendo el BM 97%. Por otra parte se recupero la enzima cel en fase inferior ( $Kr=0,34$ ), indicando una capacidad separativa entre ambas enzimas superior a 6.

**Tabla 1.** Resultados del diseño factorial para xilanasas de *A. niger*.

	Kr	BM	R% FS	R% FI
1	41.80	98.42	86.52	2.68
2	18.80	99.78	109.79	5.85
3	22.50	91.10	110.77	4.93
4	4.10	99.02	97.39	26.21
5	8.60	94.51	128.32	15.05
6	51.60	103.10	108.46	2.12
7	5.10	108.28	107.02	21.11
8	6.60	102.79	115.82	17.46

### Conclusiones.

Se determinaron las condiciones óptimas de ESBAs PEG/NaCit que permiten la obtención de xil de *A. Níger*, al emplear *S. argentinensis* como única fuente de carbono, en la fase superior del sistema y de cel en la fase inferior del mismo, con alto rendimiento y factor de purificación, lo cual demuestra el potencial de esta técnica bioseparativa para llevar a cabo la extracción de productos biológicos de alto valor.

**Agradecimiento** PICT 2013-1730, SeCyT-UNR 1BIO338 y BiValBi Biotechnologies to Valorise the regional food Biodiversity in Latin America, Marie Curie Actions.

### Bibliografía.

1. Bailey MJ, Biely P, Poutanen K. (1992) Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *J Biotechnol.* 23:257-270.
2. Smith P, Krohn R, Hermanson G, Mallia A, Gartner F, Provenzano M, Fujimoto E, Goetze N, Olson B, Klenk D (1985) Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150: 76-85.
3. Tubío G, Pellegrini L, Nerli B. B., Pico G.A. (2006) Liquid-Liquid Equilibria of Aqueous Two-Phase Systems Containing Poly(ethylene glycols) of Different Molecular Weight and Sodium Citrate. *J. Chem. Eng. Data* 51: 209-212