



APROVECHAMIENTO DEL NEJAYOTE PARA LA PRODUCCIÓN DE FERULOIL ESTERASAS DE *A. ochraceus* ÚTILES EN LA SÍNTESIS DE ÉSTERES DE ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS

Daniel A. Grajales¹, Mariana Armendariz-Ruiz¹, Alí Asaff Torres², Jorge A. Rodríguez¹, Rosa M. Camacho¹, Juan Carlos Mateos-Díaz¹. ¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, (Departamento de Biotecnología Industrial), Zapopan, Jalisco C.P. 45019; ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, (Departamento de Biotecnología Industrial), Hermosillo, Sonora, C.P. 83304, dagrajales@outlook.com

Palabras clave: Nejayote, Feruloil esterasas, *A.ochraceus*

Introducción. El nejayote es un residuo agroindustrial proveniente del proceso de nixtamalización. Es un líquido con sólidos en suspensión altamente contaminante, que tiene una carga orgánica de hasta 10 g/L de DBO. No obstante, el nejayote es rico en arabinosilanos, azúcares simples y ácido ferúlico (AF), por lo que posee un gran potencial para formular medios de cultivo para la producción de feruloil esterasas (FEs). Las FEs, son carbohidrato esterasas producidas por diversos microorganismos, con la capacidad de llevar a cabo tanto la hidrólisis como la síntesis de ésteres de distintos ácidos hidroxicinámicos. En nuestro laboratorio hemos evidenciado que el hongo *Aspergillus ochraceus* (Aoc), es un excelente productor de FEs, y una de ellas, (AocFE1), tiene el potencial de llevar a cabo la síntesis de ésteres butílicos de ácidos hidroxicinámicos (EBAH), moléculas con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y antitumorales¹.

En este trabajo se demostró que el nejayote formulado en un medio de cultivo sólido, permitió inducir de manera mayoritaria AocFE1; aprovechando de esta manera el nejayote para la obtención de biocatalizadores de interés biotecnológico.

Metodología. El nejayote se concentró a 8°Bx utilizando una membrana de ultrafiltración de 200Da. Al nejayote concentrado (N_c) se adicionó urea (4g/L), K₂HPO₄ (5g/L) y MgSO₄ (2g/L) se ajustó a pH 6.5 y se utilizó como medio de impregnación para Fermentación en Medio Sólido (FMS). La actividad FE se monitoreó con el método reportado por Ramírez². La visualización de las FEs en zimogramas se realizó empleando metil *p*-cumarato como sustrato³. La AocFE1 se purificó parcialmente en tres etapas cromatográficas: interacción hidrofóbica, intercambio iónico y exclusión molecular. La síntesis de EBAH se llevó bajo las condiciones descritas por Vafiadi con modificaciones⁴.

Resultados. Utilizando un medio formulado con N_c para FMS se logró producir hasta 1.61U/g de materia seca de actividad FE a las 72 horas de fermentación (Fig 1.A) con una actividad específica de 0.143U/mg. Esta actividad es comparable a la reportada por Faulds para las FEs A (0.13U/mg) y B (0.34U/mg) de *A. niger* utilizando salvado de trigo y xilanos de avena como inductores en el medio de cultivo, respectivamente⁵. Esto destaca el potencial de N_c como inductor de la actividad FE. Además, se observó que su uso en el medio permite inducir de forma preferencial la AocFE1, esto podría atribuirse al AF libre. Usando otros inductores ricos en arabinosilanos con AF

unido por enlace éster (Cascaquilla de maíz) no se observó este comportamiento³.

Los perfiles de hidrólisis/síntesis se obtuvieron al purificar parcialmente la AocFE1, eliminando otras esterasas que interfieren con los ensayos (Fig 1B). La solución enzimática final de AocFE1 presentó una actividad específica de 8.95U/mg sobre Metil ferulato, y un factor de purificación de 117.57.

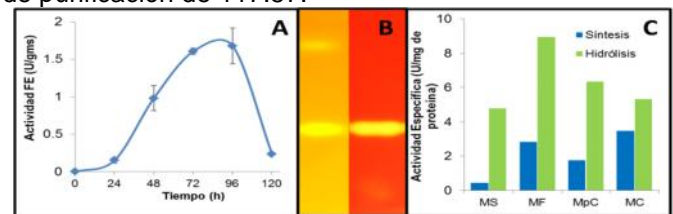


Fig 1. A: Cinética de la actividad FE en la FMS; B: Zimogramas de actividad FE; Izq.: Extracto crudo, Der: AocFE1 parcialmente purificada. C: Perfil de hidrólisis de los metil hidroxicinamatos (verde) y síntesis de los EBAH (azul) de AocFE1; Sustratos: MS: Metil sinapinato, MF: Metil ferulato, MpC: Metil *p*-cumarato, MC: Metil cafeato.

El perfil hidrolítico de AocFE1, confirma una FE inespecífica (tipo C), hidrolizando los cuatro metil hidroxicinamatos, y mostrando preferencia por MF (MF>MC>MpC>MS; Fig 1.C), esto ya ha sido reportado para otras FEs tipo C como *Sporotrichum thermophile* (StFEC) y *Talaromyces stipitatus* (TsFEC)⁵. Por otra parte, AocFE1 mostró una mayor actividad de síntesis y una preferencia por transesterificar el MC en su éster butílico, contrario a StFEC y TsFEC, que catalizan preferentemente la síntesis del resto de EBAHs⁵. Así, la AocFE1 exhibe ventajas biotecnológicas al realizar la síntesis del butil cafeato, que presenta mayores actividades biológicas que los ésteres análogos de ácidos hidroxicinámicos¹.

Conclusiones. Se demostró la capacidad del N_c para la inducción preferencial de la AocFE1 en Aoc, ofreciendo una alternativa para su aprovechamiento en procesos biotecnológicos. Por otra parte, la AocFE1 se destacó en la síntesis de los cuatro EBAH, en particular el del caféico.

Agradecimientos. Al FOMIX Jalisco por el financiamiento del proyecto No. 2012-07-190698.

Bibliografía. 1. Topakas, E., Vafiadi, C., and Christakopoulos, P., (2007). *Process Biochem.* 42(4): p. 497-509. 2. Ramírez, L., Arrizon, J., Sandoval, G., Cardador, A., Bello-Mendoza, R., Lappe, P., and Mateos-Díaz, J., (2008). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 151(2): p. 711-723. 3. Grajales, D.A., Rodríguez, J., Camacho-Ruiz, M.A., and Mateos, J.C. (2013): *AMIDIQ 2015 Mazatlan*. 4. Vafiadi, C., Topakas, E., Christakopoulos, P., and Faulds, C.B., (2006). *Journal Biotech.* 125(2): p. 210-221. 5. Faulds, C.B., DeVries, R.P., Kroon, P.A., Visser, J., and Williamson, G., (1997). *FEMS Microbiol Lett.* 157(2): p. 239-244.