

DEGRADACION INICIAL DE TANINOS CONDENSADOS POR *Aspergillus fumigatus* MC8

Mónica CONTRERAS-DOMINGUEZ¹, Nathalie MARNET², Isabelle PERRAUD-GAIME¹, Sevastianos ROUSSOS¹
Sylvain GUYOT² y Christopher AUGUR¹

¹Laboratoire IRD de Microbiologie. Université de Provence, CESB/ESIL, Case 925. 163, Avenue de Luminy. 13288, Marseille Cedex 9. Tel: (33) (0) 491 82 85 83; Fax: (33) (0) 491 82 85 70. ²Laboratoire de Recherches Cidricoles Biotransformation des Fruits et Légumes, INRA, Le Rheu, France. (mcontrerasd@hotmail.com)

Palabras clave: taninos condensados, *Aspergillus*, espectrometría de masas (MS).

Introducción. Los taninos (Tn) son polímeros polifenólicos distribuidos en todo material vegetal. Están clasificados como taninos hidrolizables si forman polímeros de ácidos fenólicos (gálico y elágico), o como taninos condensados (TC) si son polímeros de flavan-3-oles. Los TC poseen la propiedad de formar complejos con los metales (quelatos), las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos. Debido a esas propiedades, los TC bajan el valor nutricional y la digestibilidad de los subproductos agrícolas empleados en la alimentación animal^{1,2}. El presente proyecto demuestra la capacidad de una cepa de *Aspergillus fumigatus* para producir una enzima que degrada los TC.

Metodología. Los TC fueron purificados por HPLC de la manzana (*Marie ménard*), y caracterizados por la técnica de Thiolytic-HPLC³. Esta fracción fue utilizada como sustrato para el crecimiento de *A. fumigatus* en un medio mineral. La procyanidina B2 (PB2), un dímero de TC, fue utilizado como sustrato para medir la actividad enzimática extracelular. El producto de degradación (PB2-X) fue purificado sobre una columna C18 e identificado por espectrometría de masas (MS) y Thiolytic-MS-HPLC.

Resultados y discusión. Es importante en estudios sobre la degradación de moléculas aromáticas identificar los productos para poder proponer los mecanismos reaccionales. *A. fumigatus* fue seleccionada por presentar mayor porcentaje de degradación de TC. Posteriormente, se elaboró una cinética de crecimiento y de actividad enzimática extracelular (Fig. 1). A las 36h de cultivo, durante la fase exponencial del crecimiento, se observó la máxima actividad enzimática (μmol de PB2 consumida por ml de extracto enzimático). En Fase Reversa (RP-HPLC) el producto

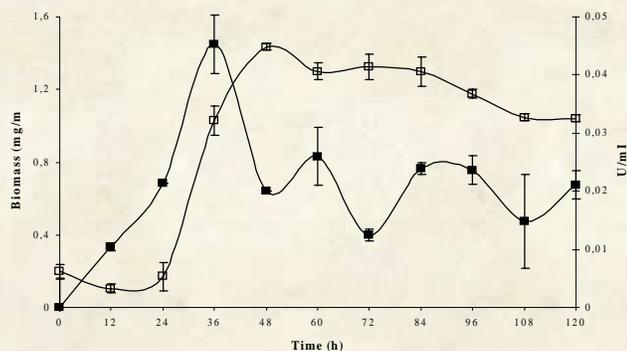


Fig. 1. Biomasa (■) y actividad enzimática (□) de *A. fumigatus*.

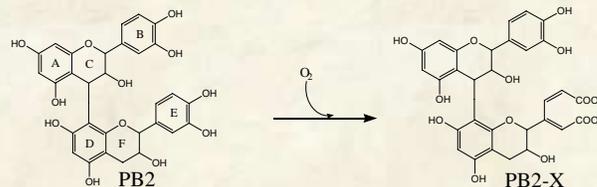


Fig. 2. Esquema propuesto para la degradación inicial de un dímero de Taninos Condensados, la Procyanidina B2 (PB2).

principal de la degradación (PB2-X) mostró un tiempo de retención menor al sustrato (PB2), indicando una polaridad mayor del compuesto. Por otra parte, en el análisis de MS, el ion de PB2 presentó un valor m/z de 577 mientras PB2-X, un ion m/z de 609. Esta diferencia de 32 Da, podía corresponder a 2 átomos de oxígeno, explicando la diferencia de polaridad observada por HPLC. Para comprobar ésta hipótesis y detallar la estructura de PB2-X, el ion m/z de 609 fue fragmentado (MS/MS y MS/MS/MS). La interpretación de los iones de la fragmentación confirmó que la degradación de PB2 se inicia por la introducción de 2 átomos de oxígeno en uno de los anillos aromáticos de la molécula. Además, un análisis de thiolytic-MS-HPLC sobre la PB2 y la PB2-X mostró que la "oxigenación" se efectúa en el monómero del flavan 3-ol terminal (unidad inferior), en el anillo de catecol (anillo E). La ruptura se observa en la unidad inferior debido posiblemente a la especificidad de la enzima. El esquema propuesto para la degradación del dímero de TC se muestra en la Figura 2.

Conclusiones. Los resultados dieron evidencia que la enzima extracelular producida por *A. fumigatus* es una di-oxigenasa que interviene durante el inicio de la degradación de la PB2. Sin embargo, otros estudios son necesarios para poder identificar la ruta completa de la degradación de los TC.

Agradecimiento. Mónica Contreras-Domínguez obtuvo una beca para estudios de doctorado. SFERE-CONACyT (No. 154904). Los estudios se hicieron en el marco del proyecto ECOS M02A02.

Bibliografía.

- Waterman, P.G. and Mole S. (1994). Structure and biosynthesis of phenolic compounds. En: *Analysis of phenolic plant metabolite*. Blakwell Sci. Pub., Oxford, 1-35.
- Waghorn, G.C. and McNabb, W.C. (2003) Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proc. Nut. Soc.*, 62, 383-392.
- Guyot S., Marnet N. and Drilleau J.F. (2001) Thiolytic-HPLC Characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerization states. *J. Agric. Food Chem.* Vol; 49 No. 1 pp14-20.