



PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN PARCIAL DE ENDO-XILANASA ÁCIDA DE *Aspergillus kawachii* POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO USANDO OLOTE DE MAÍZ

Mayela del R. Casas-González*, Cristóbal Noé Aguilar, Claudia de León, Juan Carlos Contreras-Esquivel**
Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas Universidad Autónoma de Coahuila.
Blvd.V. Carranza y José Cárdenas Valdéz. S/N Saltillo, Coah. Fax: 844-4155752 *mayela700@hotmail.com

Palabras clave: Xilano, polisacáridos, polisacaridasas

Introducción: Las xilanasas son enzimas hidrolíticas que participan en la fragmentación de los enlaces glicosídicos β -1,4 presentes en el polisacárido del xilano. La aplicación de las xilanasas se intensificó a principio de los años 80, primero en alimentación animal, seguida por aplicaciones de la industria de alimentos, agrícola, textil, del papel y en la industria de panificación entre otras (1). Actualmente representa cerca del 20% del mercado mundial de las enzimas. Las xilanasas son producidas por una gran variedad de microorganismos, dentro de los hongos productores de xilanasas ácidas destaca *Aspergillus kawachii* (2) Este hongo produce una gran cantidad de ácido cítrico, lo que hace que el pH del medio disminuye hasta 3-4, por lo que las enzimas que producen son ácido resistentes. Para la obtención de la enzima se utilizó olole de maíz como fuente de carbono, pues en México es producido en grandes cantidades como un residuo vegetal el cual debemos explotar sus propiedades biológicas. El objetivo del presente trabajo es producir y purificar endo-xilanasas ácidas de *A. kawachii* a partir de olole de maíz.

Metodología: Se realizó una fermentación en medio sólido utilizando una cepa de *A. kawachii* IFO 4308 con diferentes tiempos de fermentación 12,24,36,48 y 60 h utilizando como medio de cultivo 10 ml de una solución de: KH_2PO_4 0.6%, K_2HPO_4 0.6%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.6%, urea al 0.27% y 20 g de olole de maíz. Purificación de la enzima. Se recolectó el extracto enzimático en buffer citratos pH 4 y posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm por 30 min a 4 °C. El extracto fue filtrado a través de microfiltración (0.45 μm) y concentrado por ultrafiltración (1kDa). El extracto concentrado fue sometido a una cromatografía de filtración en gel (Sephadex G25), intercambio aniónico (QXL) y filtración en gel (Sephacryl S300) acoplado a un FPLC. La actividad xilanasas fue detectada por la técnica de Somogyi-Nelson utilizando como sustrato xilano de abedul (Sigma).

Resultados y discusión: La actividad xilanasas ácidas fue detectada a partir de las primeras 12 h de fermentación. Los mayores títulos de actividad xilanasas ácidas producidas por *Aspergillus kawachii* fue entre las 36 y 48 h (Figura 1). La concentración de la endo-xilanasas se logró utilizando una columna de ultrafiltración de 1kDa la cual facilitó la concentración 50 veces y eliminó los compuestos de bajo peso molecular. En la (Figura 2) se presentan los cromatogramas de ultrafiltración pasados a través de cromatografía de filtración en gel (extracto crudo; línea verde, concentrado; línea azul y permeado; línea rosa). El cromatograma de la muestra concentrada muestra el incremento de proteína y la ausencia de productos de bajo

peso molecular. La fracción 2 de la cromatografía de filtración en gel (G-25) fue adsorbida a una columna de intercambio aniónico (Figura 3). Los resultados mostraron un pico homogéneo de actividad xilanasas a pH 3 cuando el material fue eluido de la columna de intercambio aniónico.

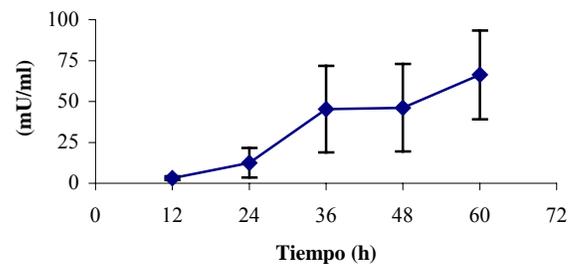


Fig 1. Efecto del tiempo de fermentación sobre la producción de xilanasas ácidas.

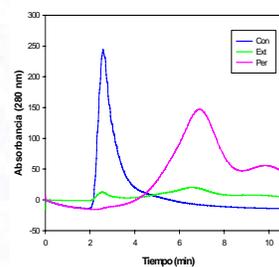


Fig 2. Cromatograma de extractos de *A. kawachii*

Detección de xilanasas pH=3

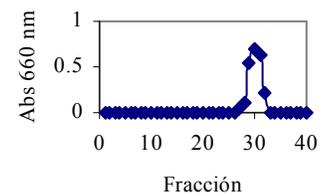


Fig 3. Cromatografía de intercambio iónico

Conclusiones

El olole de maíz utilizado como fuente de carbono para la producción de la enzima fue un buen soporte del cultivo sólido y posee los inductores necesarios para la expresión de la enzima endo-xilanasas ácidas. La combinación de técnicas cromatográficas, utilizadas intercambio iónico-filtración en gel facilitó la purificación parcial de la enzima endo-xilanasas ácidas.

Agradecimiento.

Universidad Autónoma de Coahuila "Escuela de Bachilleres Ateneo Fuente"

Bibliografía.

- (1) Kulkarni, A., Shendye, R. FEMS Microbiol. Rev. 23,411 (1999).
- (2) Ito, K., Ogasawara, H., Sumigoto, T. and Ishikawa, T. Biosci. Biotech. Biochem. 56, 547-550 (1992).