



EVALUACIÓN DE DOS METODOS DE EXTRACCION DE LISOZIMA DE LA CLARA DE HUEVO PARA SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y FARMACÉUTICA

Anaisell Reyes¹, Euriel Martínez¹, Angel Absalon¹, Eduardo Lucio², Diana V. Cortés¹.

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-IPN. Carr. Estatal Tecuexcomac-Tepetitla, Km 1.5, Tepetitla de Lardizabal, Tlax. C.P. 90700. Fax: (248)4870766. E-mail: dcortes@ipn.mx

² Investigación Aplicada, S.A. de C.V., Tehuacan, Puebla, México.

Palabras clave: Lisozima, precipitación, ultrafiltración.

Introducción. La lisozima es la única enzima que cataliza la hidrólisis del enlace β -glucosídico entre el N-acetil murámico y la N-acetil glucosamina los cuales forman la pared celular de algunas bacterias. Por tal propiedad, la lisozima ha sido utilizada como un agente bactericida en el proceso y preservación de alimentos (vinos, carnes y quesos).⁽¹⁾ En la industria farmacéutica se emplea en el tratamiento de enfermedades bronco pulmonares, pastas dentales para prevención de caries, en cremas de aplicación tópica.⁽²⁾ La lisozima es componente de algunos fluidos corporales pero es en la clara de huevo donde se encuentra en mayor concentración. El objetivo general de este trabajo es comparar 2 métodos de extracción de lisozima de clara de huevo.

Metodología. Los métodos de precipitación y ultrafiltración se basan en propiedades fisicoquímicas de la lisozima como el punto isoeléctrico (pI) y el peso molecular respectivamente. Para la precipitación se utilizó clara concentrada y diluida a pH de 9.5 (cerca del pI de la lisozima) con 5% (p/v) de NaCl como agente precipitante y un inóculo de lisozima pura para iniciar la agregación de cristales, los tratamientos se incubaron a 10°C durante 48 h. Para el método de ultrafiltración se probaron diferentes diluciones de clara (1:16, 1:8, 1:4 y 1:1) en solución de NaCl a una concentración final de 0.1 M. Todas las muestras se pasaron a través de dispositivos Amicon® Ultra-4 con membrana de 30 kDa, ya que el peso molecular de la enzima es de 14 kDa. Los filtrados obtenidos con dicha membrana se filtraron nuevamente pero con membrana de 10 kDa para concentrar la enzima. Se realizaron bioensayos en placa para comprobar la actividad, se cuantificó la actividad específica y se corrieron geles de SDS-PAGE para observar la pureza de la enzima.

Resultados y discusión.

En los tratamientos de clara diluida con inóculo de cristales de lisozima se obtuvieron las mejores eficiencias de extracción hasta un 88.6 % (Tabla 1). El mayor rendimiento de purificación de lisozima por ultrafiltración fue con clara diluida 1:16 (Tabla 2). Se obtuvo lisozima más pura cuando los filtrados se pasaron por membrana de 10 kDa pero hubo disminución en el rendimiento en la mayoría de las diluciones. La dilución en ambos métodos disminuye la viscosidad de la clara favoreciendo que las proteínas de alto peso molecular no obstruyan la precipitación y el paso de la enzima a través de la membrana.

Tabla 1. Eficiencia de extracción de lisozima por el método de precipitación.

MUESTRA	Rendimiento (%)
Clara + lisozima*	70.3
Clara -lisozima*	59.3
Clara diluida + lisozima*	88.6
Clara diluida - lisozima*	73.9

*inoculo del 5% (p/v) de cristales de lisozima comercial

Es conveniente trabajar con clara a pH cercano al pI de la lisozima, ya que se disminuyen las interacciones electrostáticas con otras proteínas presentes en la clara de huevo.⁽³⁾

Tabla 2. Rendimiento obtenido en ultrafiltración

Muestra	Membrana usada	
	30 KDa	30-10 KDa
	Rendimiento (%)	
1:16	69.2	92.3
1:8	57.7	46.1
1:4	28.8	23.1
1:1	11.5	7.2

Conclusiones. La dilución de la clara favorece la extracción de lisozima por el método de precipitación y de ultrafiltración. El pH es un parámetro importante para la precipitación de la lisozima. Se obtuvieron buenos rendimientos por ambos métodos, sin embargo la pureza de la enzima obtenida por precipitación no fue aceptable. Aunque por ultrafiltración se obtuvo una alta pureza, el método no es rentable.

Agradecimiento.

Secretaría de Economía-CONACyT por apoyo brindado para la realización de este proyecto.

Bibliografía.

- Cunningham F.E., Proctor V.A. and Goetsch S.J. (1991). Egg-white lysozyme as a food preservative: A world overview. Poultry Science Journal. 47:141-163.
- Namba Y., Hidaka Y., Taki K. y Morimoto T. (1981). Effect of oral administration of lysozyme or digested bacterial cell walls on immunostimulation in guinea pigs. Infection Immunity 31(2):580-583.
- Itoh T., Miyazaki J., Sugawara H. and Adachi S. (1987) Studies on the characterization of ovomucin and chalaza of hen's egg. Journal of Food Science 52:1519-1521.