

PURIFICACIÓN DE LA BACTERIOCINA PRODUCIDA POR *Pediococcus acidilactici* ITV26 POR EL MÉTODO DE ADSORCIÓN CELULAR

Mirna de la Fraga Chávez, Verónica Gonzáles Reyes, Mario Ramírez Lepe y Patricia G. Mendoza García. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos del Instituto Tecnológico de Veracruz Av. M.A. de Quevedo No. 2779 Col. Formando Hogar C.P. 91897 Veracruz, Ver. Fax (229) 934 57 01 Ext. 201. Correo electrónico. pmendoza@itver.edu.mx

Palabras clave: bacteriocina, purificación, *Pediococcus acidilactici*.

Introducción. En el Instituto Tecnológico de Veracruz se realizó el aislamiento de una cepa identificada como *Pediococcus acidilactici* ITV26 productora de una bacteriocina. Este metabolito es estable en un amplio intervalo de pH (1-9), termoestable a temperaturas de pasteurización (63°C por 30 min. y 72° por 15 min.) y sensible a enzimas proteolíticas como la tripsina y quimiotripsina, lo cual representa una ventaja para su uso como bioconservador en alimentos ya que esta característica determina que puede ser degradada por el aparato digestivo al ser ingerida (1). Para poder estudiar sus propiedades físicas y conocer su estructura bioquímica es importante obtenerla en estado puro.

El objetivo del presente trabajo fue purificar la bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici* ITV26 por el método de adsorción celular.

Metodología. La cepa productora de bacteriocina fue incubada en medio MRS a 37°C por 18 h. Se purificó por el método propuesto por Yang (2), ajustándolo a las características de la cepa nativa productora de bacteriocina por lo que se estudió la adsorción-desorción de la bacteriocina a la célula productora en un intervalo de pH de 1.5 a 10. Al cultivo se le dio un tratamiento térmico a 70°C por 25 min., seguido de un choque térmico al disminuir la temperatura en un baño de hielo. Se obtuvo el paquete celular por centrifugación, éste se lavo con una sol. de fosfatos, y se realizó la desorción a un pH de 2.0 a 4°C por 3 h en un baño con agitación. A continuación se centrifugo y el sobrenadante fue dializado con una membrana de 1000 Da, para finalmente liofilizarlo. Se determino su punto isoelectrico en un equipo rotofor Bio-rad .Se realizo un zimograma con la cepa sensible *Listeria. innocua* AST- 062. Las pruebas de actividad antimicrobiana de la bacteriocina se hicieron por el método de pozos Schillinger& Lucke.

Resultados y discusión. Los resultados obtenidos demostraron que la bacteriocina se adsorbió entre un 80 a 90% a un pH de 5.5 y a valores de pH de 1.5 ésta no fue adsorbida. A pH 2 hubo pérdidas de cerca del 20% de bacteriocina unida a las células. Con la posterior desorción de la bacteriocina se obtuvieron muestras puras de bacteriocina ITV26 con índices recuperación del 1.63% y un factor de purificación de 8.9. De acuerdo al análisis electroforético la bacteriocina tiene un peso molecular aproximado de 4,618.3 Da. Para conocer el punto isoelectrico, el extracto crudo de bacteriocina libre de células se precipitó con etanol al 96% La actividad de bacteriocina se presentó en las fracciones 16 a 19 con la

más alta actividad en la fracción 17. El punto isoelectrico de la bacteriocina ITV26 se estimó alrededor de 9. El estudio realizado para observar el comportamiento de la adsorción a diferentes valores de pH, mostró que después de un pH de 8 la bacteriocina comienza a perder actividad y a valores de pH de 9.5 y 10 la actividad se pierde completamente en soluciones diluidas.

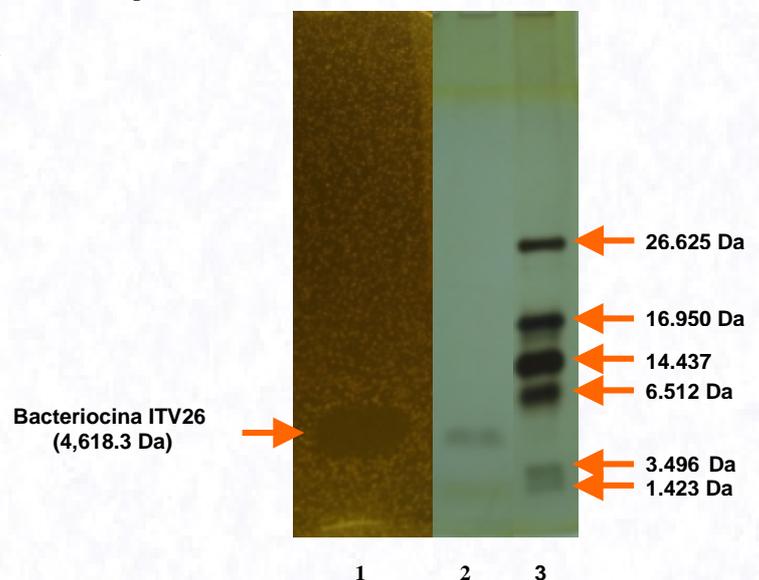


Fig. 1. Electrotoforesis SDS-PAGE y zimograma de la bacteriocina purificada.

(1) Zimograma (2) Estándar de bajo PM (3). Bacteriocina purificada.

Conclusiones. Se purificó la bacteriocina del *Pediococcus acidilactici* ITV 26 utilizando un método de adsorción-desorción. El peso molecular estimado por SDS-PAGE fue de 4 618.3 Da, y su pI de 9. Se determinó que este método disminuye varios pasos de purificación al compararlo con protocolos de purificación convencionales.

Agradecimientos. El proyecto fue financiado por el COSNET (783.00-PEQ). Mirna De La Fraga es becaria CONACYT.

Bibliografía

- 1.-López del Castillo, L. M. 1998. Aislamiento de *Pediococcus acidilactici* ITV26 y caracterización parcial de la bacteriocina producida. Tesis de maestría. UNIDA. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- 2.-Yang, R., M. C. Johnson, y B. Ray. 1992. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 58(19):3355-3359.