

CARACTERIZACION DEL SISTEMA PECTINOLITICO DE *Aspergillus kawachii*

J.C. Contreras-Esquivel^{1,2}, C.E. Vita¹ y C.E. Voget^{1*}

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, Calle 47 y 115 (1900). La Plata, Argentina. ²Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila, A.P. 252-C.P.. 25001. Saltillo, Coahuila México.*Tel: 00 54 221 483-3794/e-mail: voget@quimica.unlp.edu.ar

Palabras clave: fermentación, residuos, caracterización.

Introducción. *Aspergillus kawachii*, el hongo blanco, se distingue por ser un hiperproductor de ácido cítrico y su empleo en Asia está muy difundido en la elaboración de vino. El uso de este microorganismo en la elaboración de bebidas alcohólicas es su acción de degradar los polisacáridos de los granos para producir sustrato (mosto) el cual es luego inoculado para la fermentación alcohólica. Debido al carácter ácido de la fermentación (pH 2.0-30), las enzimas extracelulares de *A. kawachii* suelen ser más estables y activas en estas condiciones en comparación con enzimas similares producidas por otros microorganismos.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar parcialmente el sistema pectolítico de *A. kawachii* cultivado sobre glucosa y sustratos vegetales complejos (pulpa de tejocote, PT; pulpa de remolacha, PR; cáscara de mango, CM; cáscara de limón, CL; y receptáculo de girasol, RGL).

Metodología. Las condiciones y medio de cultivo fueron llevadas a cabo de acuerdo al trabajo reportado por Contreras-Esquivel (1). Las actividades sobre glicósidos se determinó por la liberación de cromógenos a partir sustratos sintéticos. La actividad sobre sustratos poliméricos (ácido poligalacturónico, ramnogalacturonano, xilano y carboximetilcelulosa) fue determinada midiendo el incremento de poder reductor. La actividad liasa fue determinada espectrofotométricamente a 235 nm. La actividad pectinesterasa fue determinada por cambio de color de un indicador de pH.

Resultados y discusión. En la *Tabla 1* se muestran los valores de actividad de algunas pectinasas. La actividad pectolítica dependió del medio de cultivo. La presencia de actividad PGasa en el medio con glucosa indica la síntesis de estas enzimas es parcialmente constitutiva. La actividad PGasa se manifestó tanto a pH 2.0 y 5.0, y se incrementó dos a cuatro veces en los medio CL, PR y CM en comparación con medio glucosa. Con respecto a la actividad pectinliasa (PeL) y pectinmetilesterasa (PME) no se detectaron en el medio con glucosa, expresándose en los medios conteniendo materiales vegetales. No se detecto actividad enzimática sobre el ramnogalacturonano (RG), indicando la ausencia de actividad RG-hidrolasa o RG-liasa. La expresión de actividad xilanasas y celulasas fue mínimo en el medio glucosa, pero también fue incrementado en los materiales vegetales. Un caso particular es el medio RGL en el cual el nivel de todas las enzimas analizadas fue bajo.

Tabla 1. Actividades enzimáticas producida por A. kawachii en distintos medios de cultivo líquido (30 horas)

<i>Medio de Cultivo</i>	PGasa		PeL	PME
	pH 2.0	pH 5.0	pH 5.2	pH 5.1
CL	73	1150	36	21
CM	93.5	535	30	35
PR	110	1040	ND	-
PT	94	160	-	42
RGL	44	47	-	7.0
Glucosa	28	276.5	ND	ND

PGasa: poligalacturonasa; PeL: pectin-liasa, PME: pectinmetilesterasa, N.D.: no detectada, - no determinada.

En el medio glucosa se detectó una mínima actividad beta-glucosidasa y beta-galactosidasa. Estas actividades se incrementaron muy significativamente en los medios conteniendo materiales vegetales, en particular CL, PR y CM. Paralelamente se determinaron altos niveles de actividad alfa-L-arabinofuranosidasa y, en mucho menor proporción, actividad ramnosidasa (en medio CL) y beta-fucosidasa. La actividad xilosidasa fue baja en todos los casos.

El screening de la actividad pectolítica demostró que *A. kawachii* posee un sistema pectolítico constituido por PME, PeL, PGasa, y diversas glicosidasas, pero no produce (o al menos no se pudo detectarse por las técnicas empleadas) una actividad enzimática que degrade el esqueleto principal de RG de las sustancias pécticas. Las PGasas se expresaron de modo parcialmente constitutivo y son activas en un amplio rango de pH (2.0-5.5). El análisis de los niveles de la enzima en el medio glucosa es siempre controvertido pues este azúcar suele ser responsable de la represión de muchos genes inducibles. Sin embargo, en cultivos llevados a cabo con glicerol mostraron que el crecimiento con esta fuente de carbono no produce aumento de la actividad PGasa ni la expresión de otras enzimas ensayadas, lo cual demuestra que la presencia de estas enzimas en los medios con sustratos vegetales complejos es preponderantemente un efecto inductivo.

Bibliografía.

1. Contreras-Esquivel, J.C. (2003). Purificación y caracterización de poligalacturonasas de *Aspergillus kawachii*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

