

EFFECTO DEL ESTRÉS INDUCIDO POR EL pH SOBRE EL CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE PECTINASAS

Blanca Trejo-Aguilar y Guillermo Aguilar. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Laboratorio 312, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM. 5622-5306

gao@servidor.unam.mx

Palabras clave: *pectinasas, estrés ácido, Aspergillus*.

Introducción: La pectina es un heteropolisacárido compuesto por dos diferentes regiones denominadas “región lisa” formada por homogalacturonano y “región peluda” formada por ramnogalacturonano I y II ⁽¹⁾. El homogalacturonano está compuesto principalmente por unidades de ácido galacturónico con enlaces α -1,4 que puede estar metilado o acetilado. El ramnogalacturonano, está formado por ácido galacturónico y ramnosa en uniones α -1, 2 que esta sustituido con arabinos y galactanos. La complejidad estructural y las diferencias en la composición entre las dos regiones de la pectina hace necesaria una gran variedad de enzimas para lograr su completa degradación. En la industrialización de frutas se requieren pectinasas con actividad en condiciones especialmente ácidas. Tal es el caso de los procesos de obtención de jugos de cítricos cuyos pH oscilan entre 2 y 3, por lo que es muy importante la búsqueda de enzimas con actividades a esos valores de pH. Una forma de obtener enzimas con mejores características es a través del aislamiento de nuevas cepas capaces de crecer y producir enzimas en valores de pH muy ácidos. En nuestro laboratorio hemos aislado y seleccionado cepas que pueden crecer y producir pectinasas en condiciones muy ácidas. Entre estas encontramos una, denominada *Aspergillus* sp FP-180 la cual puede crecer a pH de 2.5 produciendo una actividad específica muy alta, este fenómeno esta relacionado con las condiciones de estrés ocasionadas por la acidez del medio. Comparando con *A. niger* que tiene capacidad para crecer en condiciones muy ácidas este efecto de producción aumentada y de crecimiento limitado no se presentó ⁽²⁾, por lo que nos interesó evaluar si este fenómeno se presenta en otras cepas. En este trabajo se presentan los hallazgos de la evaluación del crecimiento y producción de pectinasas de 10 cepas blancas de *Aspergillus* en condiciones de estrés por pH.

Metodología: Se usaron 10 cepas de *Aspergillus* de nuestra colección, las cuales fueron aisladas de vegetales en descomposición. Las fermentaciones en medio líquido fueron llevadas a cabo usando pectina al 1% como fuente de carbono. El medio se ajusto a pH de 2.5 y 3.5. Los matracos fueron incubados a 37°C con agitación a 200 rpm. Las determinaciones de actividad enzimática y otras técnicas analíticas se realizaron de acuerdo a Trejo-Aguilar *et al* ⁽²⁾.

Resultados y discusión: Se evaluaron 10 cepas, éstas fueron crecidas utilizando medio basal con pectina como fuente de carbono a pH de 2.5 y 3.5. A fin de reducir el estrés producido durante el crecimiento a pH de 2.5 al medio se le adicionó extracto de levadura y estos resultados se compararon con los

obtenidos a mismo pH sin adición de extracto. Para todas la cepas el crecimiento a pH de 3.5 fue mayor que el obtenido a 2.5, alcanzado niveles de 3 a 5 mg ml⁻¹ de peso seco (P.S.). A pH de 2.5 ninguna cepas creció mas de 1 mg ml⁻¹ de peso seco. Sin embargo, la adición de extracto de levadura revirtió parcialmente el bajo crecimiento el cual llevo a niveles de entre 2.5 y 3.0 mg ml⁻¹(P.S). En relación con las actividades producidas en esta condiciones encontramos que en la mayoría de las cepas la mas alta actividad volumétrica se obtiene creciendo a 3.5 y representa entre un 5 y 20% más que a pH de 2.5 con y sin extracto de levadura. Las cepas 440, 450 y 470 en las que la producción a pH 3.5 fue menor. La adición de extracto también mejoró de manera importante la producción volumétrica. Sin embargo, cuando se calcula la actividad específica (Tabla 1), la mejor condición fue al crecer a pH de 2.5 sin adición de extracto. Lo cual correlacionó con el estado de estrés al que está sometida la célula.

Tabla 1 Actividad Exo-pectinolítica específica (U/mgPS).

Cepa	pH de crecimiento		
	2.5	2.5 (Ext. Lev)	3.5
60	18.97	5.42	7.9
180	31.20	7.12	7.31
340	22.78	6.89	5.9
420	24.56	9.80	5.14
440	18.55	6.35	2.94
450	14.34	4.75	2.09
470	14.62	7.62	3.18
480	15.61	4.93	3.27
500	27.78	5.35	5.82
510	19.63	5.63	2.44

Conclusiones: La respuesta de la célula al crecer a pH de 2.5 es un bajo crecimiento y una alta actividad específica. Si hay una disminución del estrés por pH al adicionar extracto de levadura, y en consecuencia se favorece el crecimiento pero la actividad específica no se modifica. El fenómeno de crecimiento limitado es una característica presente en las 10 cepas blancas de *Aspergillus* sp. Estamos diseñando una estrategia para emplear el estrés por pH para el mejoramiento de la producción.

Agradecimientos: PAIP, Facultad de Química, UNAM.

Bibliografía:

- Perez,S., K. Mazcau and C.Herve du Penboat (2000) The three-dimensional structures of the pectin polysaccharides. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 37-55.
- Trejo-Aguilar B.A., Visser J. and Aguilar O. G.(1995) Pectinases secretion by *Aspergillus* FP-180 y *Aspergillus niger* N-402 growing

under stress induced by the pH of culture medium. *Pectin and Pectinases*. Visser and Vorgen. Elsevier The Netherlands. 915-920.