



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD DE NARINGINASA EN ACTINOBACTERIAS.

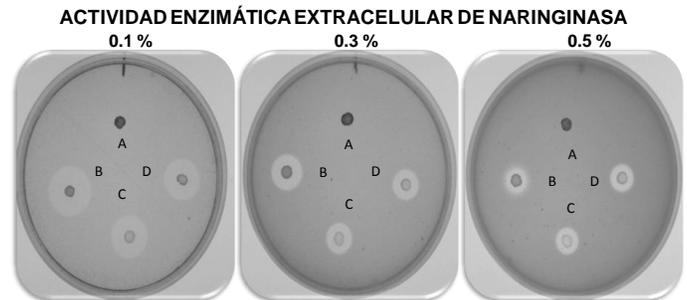
Leonela del Jesus Caraveo, Ingrid Rodríguez-Buenfil y Zahaed Evangelista-Martínez. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (Unidad Sureste), Calle 30 # 151, Col. García Ginerés, Mérida, Yucatán. zevagelista@ciatej.net.mx.

*Palabras clave:* Naringinasa, actinobacterias, naringina.

**Introducción.** El sabor amargo de algunos jugos de cítricos es un factor que limita su aceptación comercial. Uno de los compuestos que lo provoca es la naringina, flavonoide que está constituido por la aglicona, D-glucosa y rhamnosa. Diversos procesos para eliminar el flavonoide de los jugos se han desarrollado<sup>1, 2, 3</sup>, aunque sin buenos resultados. Un método que se ha venido desarrollando es la hidrólisis enzimática de la naringina por la naringinasa, enzima que presenta las actividades de  $\alpha$ -rhamnosidasa y  $\beta$ -glucosidasa. La naringinasa comercialmente disponible es la de *Penicillium decumbes*, a pesar de ello se buscan otras fuentes microbianas; sin embargo el proceso para su determinación es laborioso y consume mucho tiempo. El objetivo del presente trabajo fue buscar y evaluar mediante cultivos en placa actinomicetos aislados del suelo que presentaran la actividad de naringinasa.

**Metodología.** Los aislamientos se realizaron a partir de muestras de suelo provenientes de la Reserva de la Biósfera Los Petenes en el Estado de Campeche. La búsqueda de actividad de naringinasa se llevó a cabo en placas de Petri con medio ISP9, que fueron suplementadas con naringina (SIGMA) a las concentraciones de 0.1 al 0.5 % posterior a la esterilización. Se evaluó el índice de la actividad enzimática mediante la relación halo de hidrólisis (Cz)/diámetro de la colonia (Cs)<sup>4</sup> a los días 7, 10 y 14 de incubación (29° C). La naringinasa comercial de *P. decumbes* se usó como control positivo.

**Resultados.** De las muestras de suelo se aislaron 155 cepas de actinobacteria, las cuales fueron utilizadas para realizar una búsqueda de las que presentaban la capacidad de emplear la naringina como única fuente de carbono. Todas ellas se inocularon en medio ISP9 + naringina al 0.5 %, de las cuales sólo 12 formaron un halo claro alrededor de las colonias. De estas, se seleccionaron 3 que presentaron el índice más alto de Cz/Cs (ACT2.10, ACT2.18 y ACT2.59). Las cepas seleccionadas se inocularon en ISP9 + naringina a las concentraciones de 0.1, 0.3 y 0.5%, La figura 1 muestra los halos claros alrededor de 3 de las colonias, que corresponden a las zonas de actividad de la naringinasa; además se puede observar que la zona de hidrólisis disminuye conforme aumenta la concentración de naringina en el medio.



**Fig. 1.** Actividad naringinasa en placa a diferentes concentraciones de naringina. Actinobacteria: A, ACT2.3 (cepa control que no forma halo claro); B, ACT2.10; C, ACT2.18; D, ACT2.59. Incubación a 29° C durante 7 días.

A los 10 y 14 días de incubación la relación Cz/Cs se incrementa en las tres concentraciones de naringina y en las tres cepas de actinobacterias, con un factor de actividad enzimática de al menos 2.5 órdenes de magnitud mayor con respecto al crecimiento de la colonia control ACT2.3 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Actividad enzimática de Naringinasa en placa. Un índice igual a 1 representa actividad nula; 1> indica la potencia de actividad de la enzima; los datos corresponden al promedio de 3 determinaciones.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE NARINGINASA (Cz/Cs)			
CONCENTRACIÓN NARINGINA			
	0.1%	0.30%	0.50%
<b>14 días</b>			
ACT 2.3	1.00 +/- 0.0	1.00 +/- 0.0	1.00 +/- 0.0
ACT 2.10	5.98 +/- 0.68	3.47 +/- 0.36	3.31 +/- 0.02
ACT 2.18	4.84 +/- 0.04	2.7 +/- 0.52	2.57 +/- 0.11
ACT 2.59	4.49 +/- 0.24	2.73 +/- 0.4	2.72 +/- 0.08

**Conclusiones.** Se aislaron 12 actinomicetos con la capacidad de presentar actividad de naringinasa. Asimismo, se reporta un procedimiento en placa, rápido y económico para la búsqueda y análisis masivo de microorganismos que producen naringinasa.

**Agradecimiento.** Financiamiento FOMIX Conacyt-Campeche 96874.

### Bibliografía.

- Berhow MA (2000). *Plant Growth Regul.* 30:225-232
- Fayoux SC, Hernández RJ, Holland RV (2007). *J. Food Sci.* 72:143-154
- Puri A (1984). US Patent. 4:439-458.
- Gohel V, Megha C, Vyas P, Chhatpar HS (2004). *Ann. Microbiol.* 54:503-515