

EFECTO DE LAS PROTEINAS DEL SUERO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA β -GALACTOSIDASA

Judith Jimenez-Guzman^a, Alma Cruz-Guerrero^a, Gabriela Rodriguez-Serrano^a, Agustin Lopez-Munguia^b, Lorena Gomez-Ruiz^a, and Mariano Garcia-Garibay^a

^a Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, AP 55-535, 09340, México, D.F. México e-mail: jmgg@xanum.uam.mx. ^b Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 510-3, Cuernavaca, Mor., 62271, Mexico

Palabras Clave: *β galactosidasa*, *β lactoglobulina*, *lactosilación*

Introducción. Varios reportes establecen que la presencia de algunas proteínas en el medio de reacción puede afectar la actividad de la lactasa, probablemente debido al efecto enmascarador de algunos iones; otros autores establecen que es el calentamiento de algunas proteínas lo que podría modificar la actividad de la enzima (1). También se ha reportado que el tratamiento térmico del suero a altas temperaturas puede aumentar la actividad de lactasa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de algunas proteínas del suero y su tratamiento térmico sobre la actividad de la lactasa de *Kluyveromyces lactis*.

Metodología. Substratos: Se prepararon soluciones de α -lactoalbumina (1mg/ml), seroalbúmina (0.3 mg/ml), β -lactoglobulina (β -lg) (3 mg/ml) y β -lg lactosilada (3 mg/ml) en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8. La β -lg se lactosiló durante 30 min en una solución de lactosa 5% a 75°C. Se dializó y liofilizó.

Tratamientos: Las soluciones se calentaron a 55, 65, 75 y 85°C 30 min. En algunos casos la β -lg se calentó en presencia de diferentes concentraciones de lactosa.

Actividad enzimática: Se midió siguiendo el aumento de glucosa u o-nitro fenol (ONP) en el medio de reacción.

Resultados y discusión. La sola presencia de β -lg y seroalbúmina aumenta la actividad de la β -galactosidasa hasta tres veces, sin embargo solo el tratamiento térmico de la β -lg la aumentó aún más. Previamente, la medición de los cambios en el espectro de UV y de los grupos -SH liberados demostró que el aumento en la actividad provocado por el tratamiento térmico está altamente relacionado con la concentración de SH liberados al medio por la desnaturalización de la β -lg.

Al calentar β -lg en presencia de lactosa entre 55 y 75 °C la actividad de lactasa disminuye conforme se acerca a 75 °C (Fig 1). Esta disminución se acentúa conforme aumenta la concentración de lactosa en el medio de calentamiento, posiblemente debido a la lactosilación de la β -lg, la cual ocurre gradualmente a esas temperaturas (2). La disminución encontrada cuando la β -lg se calienta en presencia de lactosa es muy similar a la que se encuentra cuando se calienta el suero a 75 °C (Fig 1).

Experimentos llevados a cabo con β -lg lactosilada demostraron que la disminución en la actividad no se debe a un efecto inhibitorio de la β -lg lactosilada, sino al hecho de que la lactosilación disminuye el efecto activador de la β -lg

(Fig 2). Pruebas preliminares sugieren que la β -lg se une a la lactasa activándola, pero cuando la proteína se lactosila pierde su capacidad de unirse a la enzima y por ende su efecto activador.

Figura 1. Efecto del tratamiento térmico del suero y de la β -lg en presencia de lactosa

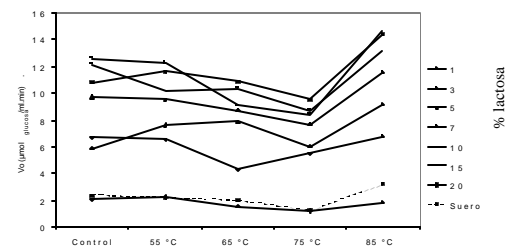
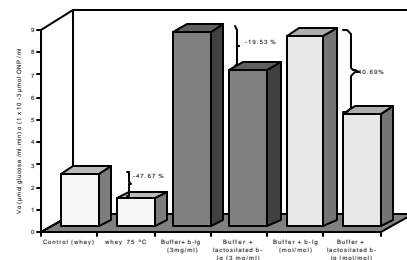


Figura 2. Efecto de la lactosilación de la β -lg sobre la actividad de lactasa.



Conclusiones. La presencia de seroalbúmina y β -lg aumenta la actividad de la β -galactosidasa. Se observaron dos efectos activadores diferentes para la β -lg: uno dependiente del calor, en el que la liberación de grupos -SH al medio de reacción activa a la enzima, y otro posiblemente debido a la capacidad de la proteína de unirse a la enzima; se observó también que la lactosilación de la β -lg disminuye su efecto activador, probablemente debido a la pérdida de su capacidad de unirse a la enzima.

Bibliografía: 1. Mahoney RR; Adamchuck C, 1980, Effect of milk constituents on the hydrolysis of lactose by lactase from *Kluyveromyces fragilis*, *J. Food Sci.*, 45, 962-964, 968. 2. Morgan F, Bouhallab S, Henry G, Maubois JL, Léonil J, 1998, Lactolation of β -lactoglobulin monitored by electrospray ionisation mass spectrometry, *Int. Dairy J.*, 1998, 8, 95-98