

CARACTERIZACIÓN Y PURIFICACIÓN DE L-ASPARAGINASA OBTENIDA DE UN AISLADO DE *Bacillus velezensis* OBTENIDO DE SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS

Karina Maldonado¹, Lorena Pedraza¹, Ruth Pedroza¹, Manuel Kirchmayr²

¹ Universidad Iberoamericana Ciudad de México, Departamentos de Ingeniería Química, Industrial y de Alimentos. Prolongación Paseo de Reforma 880, Lomas de Santa Fe, México, C.P. 01219, Ciudad de México. P4000.

² Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Unidad de Biotecnología Industrial. Camino Arenero #1227. El Bajío del Arenal. Zapopan, Jalisco. México, C.P. 45019

ib.karinamaldonado@gmail.com

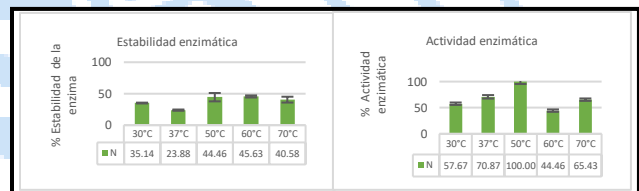
Palabras clave: Asparaginasa, velezensis, lignocelulósicos

Introducción. La acrilamida es un compuesto que se forma al calentar principalmente alimentos ricos en carbohidratos, como cereales y tubérculos, a temperaturas mayores a 120 °C ya sea por freído, horneado, rostizado o por tostado. Es producto de la reacción entre la glucosa o la fructosa con la L-asparagina, también puede encontrarse en el café tostado, lácteos, productos de chocolate e incluso en carnes, donde tiene lugar la reacción de Maillard que es uno de los mecanismos de formación del compuesto. Dado que actúa como un neurotóxico en humanos (2), se han hecho esfuerzos por encontrar mecanismos de eliminación de la acrilamida en los alimentos. Una alternativa que ha demostrado ser eficaz es el uso de L-asparaginasa, enzima que puede obtenerse a partir de microorganismos como *Bacillus velezensis*, que es una bacteria Gram positiva formadora de endosporas. El objetivo de este trabajo es purificar y caracterizar la enzima para posteriormente utilizarse en alimentos y compararla con una comercial.

Metodología. La caracterización enzimática se realizó probando diferentes temperaturas y pH's (30, 37, 50, 60 y 70 °C) y (4, 7 y 9) respectivamente, la purificación enzimática se realizó utilizando sulfato de amonio al 40% p/v, seguido de una diálisis con buffer Tris-HCl pH 8, 1M, membranas de diálisis de celulosa (D9527-Sigma) y una cromatografía utilizando Sephadex G100 como fase estacionaria y buffer Tris-HCl como fase móvil, la actividad enzimática se midió utilizando el método de Nessler.

Resultados. La enzima mostró tener una buena estabilidad y actividad enzimática a diferentes temperaturas ya que conserva cerca del 50 % de su actividad enzimática en temperaturas de 50, 60 y 70°C, considerando la actividad enzimática máxima como base 60.44 U/mL, que es un resultado superior al reportado por otra cepa de *Bacillus velezensis* y por *Bacillus licheniformis*(3).

Fig. 1. Resultados de la caracterización enzimática, se observa que



la estabilidad de la enzima es mejor a temperaturas más elevadas, ya que a 30 y 37°C pierde más estabilidad, en cuanto a la actividad enzimática, su mejor actividad se encuentra a los 50°C.

En cuanto al pH se observó que la enzima tiene mejor actividad a pH de 7 y 9, la diferencia entre ambos fue de dos unidades enzimáticas, mientras que en un pH de 4 la actividad disminuye en un 20%.

En la purificación enzimática se obtuvieron 15 fracciones 8 dieron actividad enzimática, la pureza de la enzima se hizo mayor al avanzar en la purificación, las U/mL aumentaron al igual que las U/mg de proteína.

Tabla 1. Resultados de la purificación enzimática.

| Diálisis | U/mg proteína |
|---------------|---------------|
| | 940.72 |
| Cromatografía | U/mg proteína |
| | 1372.28 |

Conclusiones. La enzima aislada del microorganismo *Bacillus velezensis*, muestra ser una buena candidata para su uso potencial en alimentos al conservar cerca de la mitad de su actividad a temperaturas elevadas y su versatilidad en cuanto a sus rangos de pH, la purificación debe mejorarse para mejorar las unidades enzimáticas en cada paso.

Bibliografía.

- Friedman, M. (2003). Journal of agricultural and food chemistry, 51(16), 4504-4526.
- Bråthen, E., & Knutsen, S. H. (2005). Food Chemistry, 92(4), 693-700
- Mostafa, Y., Alrumman, S., Alamri, S. et al (2019). Electronic Journal of Biotechnology, 42, 6-15.