

PRODUCCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE QUITOOLIGOSACÁRIDOS OBTENIDOS POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE UNA QUITINASA DE FRUTO DE PAPAYA VARIEDAD MARADOL

Joshua Everardo Cárdenas-Jiménez¹, Acilegna Janette Castillo-Sánchez², Juan Alberto Osuna-Castro¹, ¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Tecomán, Colima. C.P. 28100, ²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima, Coquimatlán, Colima, C.P. 28400. jcardenas37@uclm.mx

Palabras clave: quitooligosacáridos, quitinasa, papaya Maradol

Introducción. Los quitooligosacáridos (COS) son oligómeros de quitina hidrosolubles constituidos por moléculas de N-acetilglucosamina (GlcNAc) con un grado de polimerización (DP) menor a 20 (1, 2). Entre sus actividades biológicas destacan sus efectos antimicrobianos, antitumorales, antioxidantes, además de ser utilizados como alimentos funcionales y nutraceuticos. Una alternativa para la síntesis de COS es mediante la degradación enzimática empleando quitinasas, ya que se pueden obtener cadenas con diferentes DPs de un modo más amigable con el ambiente (1, 3).

Esta investigación tiene el propósito de sintetizar e identificar los productos de la degradación del sustrato quitina azure a través de una quitinasa de fruto de papaya Maradol.

Metodología. La enzima se extrajo del fruto maduro de papaya Maradol y se purificó por cromatografía de intercambio catiónico carboximetil-Sepharose. Se determinó la actividad de la enzima pura utilizando el sustrato quitina azure (QA), a distintos tiempos de reacción: 2, 4, 6, 12 y 24 h, cuantificando la absorbancia a 550 nm (A_{550}) (4). Los productos de reacción se identificaron por cromatografía en placa fina (TLC) (5) (Fig. 2).

Resultados. Se purificó una quitinasa funcional por una sola cromatografía de intercambio catiónico. A partir de las primeras 2 h la enzima mostró actividad frente a la QA, la cual fue aumentando progresivamente respecto al tiempo (Fig. 1). El principal producto de reacción obtenido por hidrólisis de quitina azure fue quitotriosa (GlcNAc)₃, que comenzó a identificarse desde las 2 h y fue incrementando su concentración conforme aumentó el tiempo, alcanzando una máxima intensidad a las 24 h; además, se observó un barrido entre el DP3 al DP1, lo que sugiere la presencia de COS con grado de polimerización menor como quitobiosa (GlcNAc)₂ y GlcNAc, aunque en concentraciones más bajas (Fig. 2).

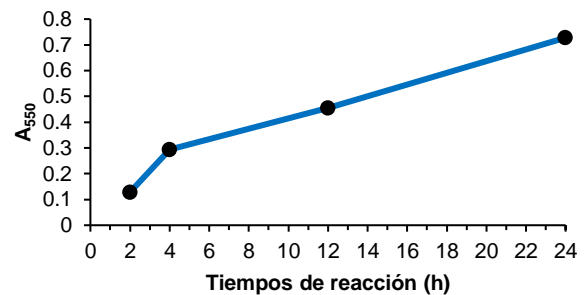


Fig. 1. Actividad enzimática de la quitinasa de papaya a diferentes tiempos de reacción usando como sustrato QA.

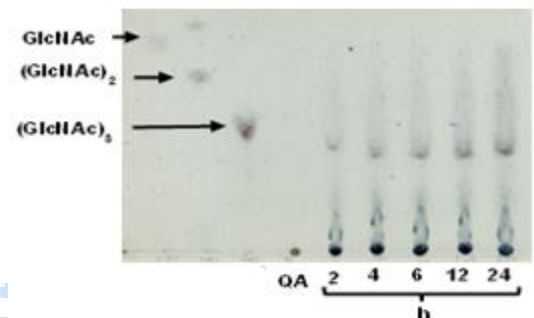


Fig. 2. TLC de COS producidos por la quitinasa de papaya Maradol sobre QA. Estándares: DP1 (GlcNAc), DP2 (GlcNAc)₂ y DP3 (GlcNAc)₃; control negativo: QA; productos de reacción (2, 4, 6, 12, 24 h).

Conclusiones. La quitinasa de papaya Maradol es capaz de hidrolizar QA y generar COS de bajo grado de polimerización, principalmente GlcNAc₃ o quitotriosa, por lo tanto, se deduce que es una endoquitinasa.

Bibliografía.

Lodhi, G.; Kim, Y. S.; Hwang, J. W.; Kim, S. K.; Jeon, Y. J.; Je, J. Y.; Ahn, C. B.; Moon, S. H.; Jeon, B. T. y Park, P. J. (2014). *BioMed Research International*. 2014:1-13.
 Mahata, M.; Shinya, S.; Masaki, E.; Yamamoto, T.; Ohnuma, T.; Brzezinski, R.; Mazumder, T. K.; Yamashita, K.; Narihiro, K. y Fukamizo, T. (2014). *Carbohydrate Research*. 383:27-33.
 Choi, Y. J.; Kim, E. J.; Piao, Z.; Yun, Y. C. y Shin, Y. C. (2004). *Applied and Environmental Microbiology*. 70(8):4522-4531.
 Shen, C. R., Chen, Y. S., Yang, C. J., Chen, J. K., & Liu, C. L. (2010). *Journal of Biomolecular Screening*, 15(2), 213-217.
 Koppurapu, N. K.; Liu, Z.; Fei, F.; Yan, Q. y Jiang, Z. (2011). *Process Biochemistry*. 46(6):1370-1374.