

DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE PURIFICACIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS PRODUCIDOS POR *AUREOBASIDIUM PULLULANS*.

Nathalie García Estévez¹, Lorena Pedraza Segura¹, Karina Maldonado Ruiz Esparza¹, Alejandro I. Gutiérrez Hernández¹.¹Universidad Iberoamericana, Departamento de Ingeniería Química, Industrial y de Alimentos. Lomas de Santa Fe, Álvaro Obregón, Ciudad de México, C.P. 0.1219. Correo: ngarciae95@gmail.com.

Palabras clave: exopolisacáridos, Aureobasidium pullulans, purificación

Introducción. Los exopolisacáridos (EPS) son biopolímeros de alto peso molecular que se han convertido en bioproductos de gran interés en la industria. Para la extracción de EPS se requiere la selección de un método que tome en cuenta sus características y el grado de pureza requerido. Debido a la gran variedad de reportes que existen en la literatura sobre la purificación de este tipo de biopolímeros es necesario la selección del método de extracción. Para este estudio se utilizó *Aureobasidium pullulans* por ser una levadura que ha sido ampliamente estudiada como productora de EPS, pues es conocida por secretar el homopolisacárido denominado pululano. El objetivo de este trabajo es la selección de una estrategia de purificación a partir del estudio de dos métodos de desproteínización y dos solventes para lograr extraer la mayor cantidad de EPS.

Metodología. Microorganismo utilizado: *Aureobasidium pullulans* (NRRL 12974). Composición del medio de cultivo (g/L): 20 Sacarosa, 5 Extracto de levadura, 0.8 K₂HPO₄, 0.2 KH₂PO₄, 0.2 MgSO₄·7H₂O y 0.085 CaCl₂. Condiciones de cultivo: 28 °C, 150 rpm por 30 h. La purificación consta de estos pasos generales: centrifugación, inactivación enzimática, diálisis y secado del producto. Se evaluaron dos estrategias de desproteínización: ácido tricloroacético (TCA) (1) y reactivo Sevag (2), y dos solventes para la precipitación de EPS: etanol frío y acetona. La concentración de EPS se midió por gravimetría, la de proteína por Bradford, y la concentración celular por densidad óptica a 600 nm. Se realizó una hidrólisis ácida (3) a los EPS para identificar los monosacáridos por HPLC en la columna Aminex HPX 871H. El producto fue caracterizado por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.

Resultados. Se realizó un diseño de experimento Factorial de Cribado 2², y se analizó los resultados mediante *One-way ANOVA* en el *software Statgraphics Centurion XIX*. Proceso: (1) Sevag-Etanol, (2) Sevag-Acetona, (3) TCA-Etanol y (4) TCA-Acetona. Por HPLC se encontraron residuos de los monosacáridos: glucosa y manosa.

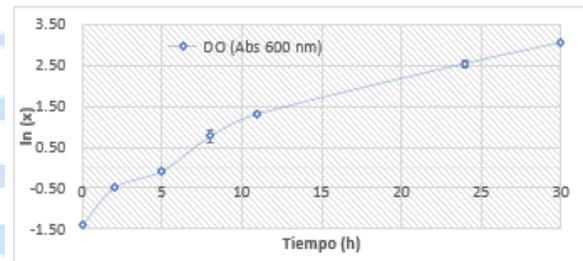


Fig. 1. Cinética de crecimiento de *Aureobasidium pullulans*.

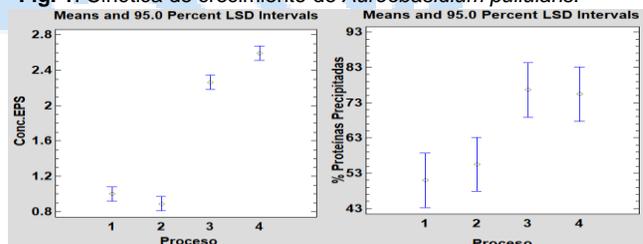


Fig. 2. Gráfico de las medias para el estudio de los procesos de purificación.

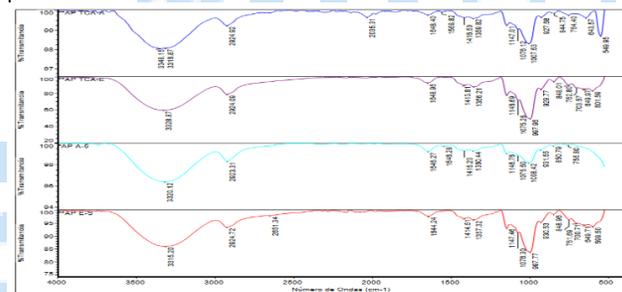


Fig. 3. IR de EPS obtenidos. Señales importantes: 3320, 2924, 1648, 1076, 930, 850, 755 cm⁻¹.

Conclusiones. Se decidió utilizar TCA como desproteínizante, ya que se logra un mayor porcentaje de proteína precipitada y como solvente acetona pues se extrae una mayor cantidad de EPS.

Agradecimiento. INIAT. Proyecto 0050.

Bibliografía.

- Lima L, Habu S, Gern J, Nascimento B, Parada J, Noseda M, Soccol C (2008) *Applied biochemistry and biotechnology*, Vol (151): 283-294.
- Li X, Zhao R, Zhou H, Wu D (2012) *Advanced Materials Research*, Vol (340): 416-420.
- González J, Farías L, Zamudio M, Álvarez M, Vera J, Martínez R, Peña A (2012) *Journal of the Mexican Chemical Society*, Vol (56(4)): 395-401.