

## IDENTIFICACION DE LA ACTIVIDAD DE QUITIN DEACETILASA MICROBIANA

Patricia Miranda Castro<sup>1\*</sup>, Héctor Barajas Gonzalez<sup>1</sup>, Galo Cárdenas Triviño<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología, Coordinación de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM. C.P. 54770. Fax 58-80-52-99- e mail [mircas@servidor.unam.mx](mailto:mircas@servidor.unam.mx) <sup>2</sup> Laboratorio de Quitina y quitosano. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción Chile. [gcardena@udec.cl](mailto:gcardena@udec.cl)

### Introducción

Gracias a los avances en biotecnología, la quitina y el quitosán representan un gran reto para la comunidad científica e industrial, ya que son una buena fuente de materiales renovables y biodegradables<sup>1</sup>.

La quitina es un biopolímero natural muy abundante en la naturaleza, junto con otros componentes (proteínas y sales minerales), aparece como constituyente estructural de los artrópodos, hongos y algas unicelulares<sup>2</sup>.

La comercialización de productos que contienen quitosán ha estimulado al descubrimiento de nuevas fuentes de materiales quitinosos y esto es un indicio para el desarrollo de mejores vías de obtención de quitina a las ya existentes debido a que se ha presentado la problemática de la no homogeneidad del producto en cuanto a sus características y actividad<sup>4,5</sup>.

Es por este motivo, que una de las alternativas al proceso químico de extracción de quitina y su transformación a quitosán sea de una manera mas controlada a través de la vía enzimática<sup>3</sup>.

En este trabajo se explora la actividad de la enzima quitin deacetilasa proveniente de fuentes microbianas.

### Metodología

Se llevó a cabo el aislamiento y purificación de cepas de hongos de diversas fuentes. Se seleccionaron los microorganismos con capacidad de crecimiento en medios de cultivo con quitina como única fuente de carbono y nitrógeno y posteriormente se identificó la actividad de la quitin deacetilasa por medio de la técnica de desarrollo de color, valorándose así la desaparición de quitina y aparición de grupos amino a través del tiempo.

Una vez finalizada la cinética de crecimiento del microorganismo y desarrollo de color, se recuperó por precipitación alcalina al quitosán, el cual fue identificado por espectroscopia de infrarrojo.

### Resultados.

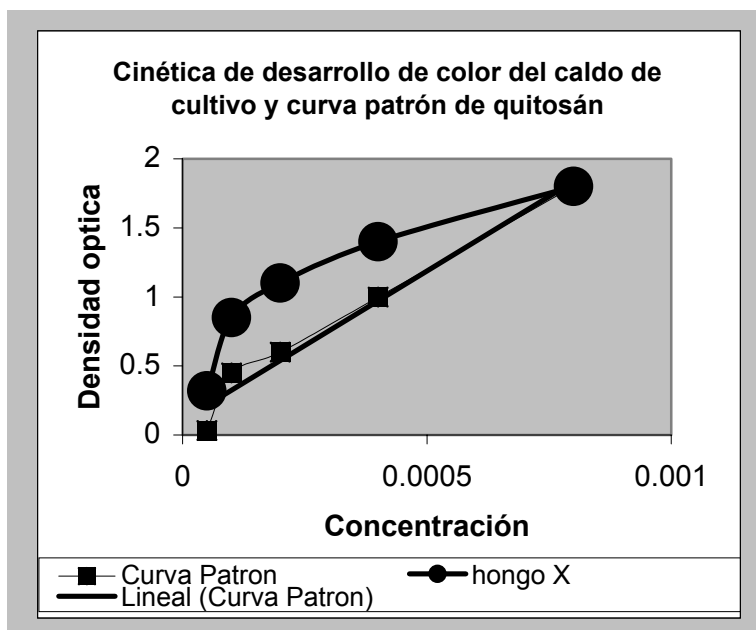
De las 24 cepas de hongos que se aislaron de diversas fuentes; sólo 15 observaron crecimiento en el medio de cultivo en donde la única fuente de carbono y nitrógeno era la quitina.

Se estandarizó la técnica colorimétrica y se realizaron pruebas tanto con quitina como con quitosán.

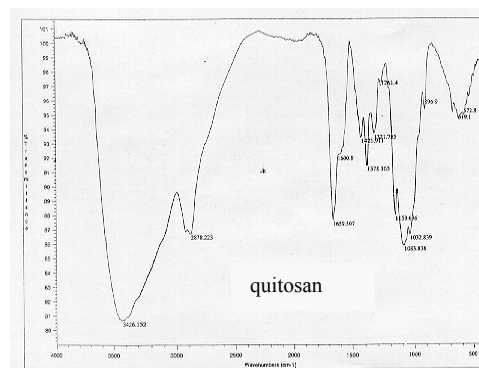
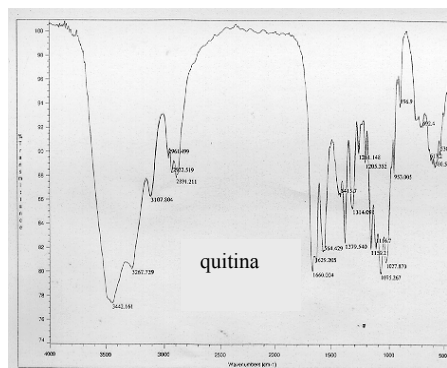
A las 15 cepas positivas al crecimiento se les realizó la prueba de colorimetria, para detectar la presencia de los grupos amino presentes por la desacetilación de la quitina.

De estas cepas solo 4 reaccionaron positivamente a la prueba y de estas cuatro solo una presentó un mayor crecimiento con respecto a las otras.

Se construyó una curva patrón con quitosán para evaluar la cantidad de que se produjo con respecto al tiempo de crecimiento del microorganismo, la cual se muestra a continuación.



Finalmente para corroborar que el precipitado obtenido de los caldos de cultivo era quitosán, este fue analizado por espectrofotometría de infrarrojo.



## Referencias

- 1.-Iason Tsigos, Aggeliki Martinou, Dimitris Kafetzopoulos and Vassilis Bouriotis. Chitin deacetylases: new, versatile, tools in Biotechnology. Tibtech July 2000 (vol. 18). pp. 305 – 310
- 2.-Srinivasan. United States Patent. No: 5,379,015 Date of patent: Apr. 14, 1998. Biotransformation of chitin to chitosan
- 3-Ken Tokuyasu, Mayumi Ohnishi – Kameyama and Kiyoshi Hayashi. Purification and characterization of extracellular chitin deacetylase from *Colletotrichum lindemuthianum*. Biochemistry vol.60. pp. 1598 – 1603
- 4.-Dimitris Kafetzopoulos, Aggeliki Martinou and Vassilis Bouriotis. Bioconversion of chitin to chitosan: Purification and characterization of chitin deacetylase from *Mucor rouxii*. Prot Natl. Acad Sci USA vol 90 pp. 2564 – 2568 april 1993.
- 5.-Laurel L. Davis and Salomon Bartnicki – Garcia. Chitosan synthesis by the tandem action of chitin synthetase and chitin deacetylase from *Mucor rouxii*. Biochemistry 1984. vol 23 pp. 1065 – 1073