**Proceso de purificación de Lisozima compatible con la industria de los ovoderivados**

Ybarra T (1), Kikot PA (1), Grasselli MG (1)

(1) Laboratorio de Materiales Biotecnológicos (Universidad Nacional de Quilmes), Roque Sáenz Peña 352, Quilmes, Bs.As., Argentina.

pamela.kikot@gmail.com

El huevo aviar es una conocida fuente de nutrientes como proteínas, lípidos, enzimas y factores de crecimiento. La clara de huevo está compuesta principalmente por agua y proteínas, los cuales representan un 88% y 11% de esta, respectivamente. Las proteínas de clara de huevo son predominantemente globulares y de un punto isoeléctrico ácido, con excepción de la Lisozima y la Avidina. Las proteínas mayoritarias que la componen incluyen Ovoalbúmina, Ovotransferrina, Ovomucoide, Lisozima y Ovomucina. Cada proteína tiene diferentes propiedades funcionales y han sido aisladas de la clara de huevo utilizando varios métodos. La Lisozima representa el 3,5% de las proteínas de la clara. Es una enzima ubicua (siendo la lisozima del huevo la más soluble y estable) que puede hidrolizar el enlace β entre el ácido N-acetilneuramínico y la N-acetilglucosamina de la pared celular bacteriana. El peso molecular es 14,4 KDa, consta de una sola cadena polipeptídica con 129 aminoácidos y tiene 4 puentes disulfuro que le otorgan alta estabilidad térmica. Dado que es altamente básica (punto isoeléctrico pI= 10,7) tiene tendencia a unirse a proteínas cargadas negativamente como la Ovomucina. La Lisozima se encuentra entre las primeras proteínas de clara de huevo que han sido aisladas y utilizadas por la industria. La separación de la lisozima se realiza principalmente mediante cromatografía de intercambio iónico, dado su alto pI. También se han probado cromatografía de afinidad y de exclusión molecular, pero estos métodos no son adecuados para la producción a gran escala debido a los bajos flujos, los altos costos de la resina o la baja capacidad. La ultrafiltración fue utilizada para separar Lisozima con una pureza del 80-90%, pero solo a escala de laboratorio. Por lo tanto, es importante desarrollar un método simple, eficaz y escalable para obtener Lisozima en la industria alimentaria y farmacéutica. Este trabajo plantea el diseño de un proceso de purificación a bajo costo de Lisozima compatible con el uso del resto de la clara de huevo en la fabricación alimenticia, de forma que constituya un subproducto que genere valor agregado a la industria de los ovoproductos. En Argentina existen 15 plantas dedicadas a la elaboración de ovoproductos localizadas en las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos y Santa Fe que podrían ser receptoras de esta tecnología. Se diseñó la obtención de Lisozima a partir de clara de huevo utilizando como primer proceso unitario una co-precipitación isoeléctrica, agregando agua y cloruro de sodio y acidificando el medio. Este método deja el 98% de las proteínas de la clara de huevo remanentes en el sobrenadante y en condiciones aptas para ser empleadas en la industria alimenticia. El 2 % restante precipitado contiene la Lisozima junto con otras proteínas contaminantes, por lo que se estudiaron distintas alternativas para precipitar selectivamente las mismas (temperatura, pH y el agregado de polietilenglicol) seguido por un proceso de ultrafiltración. Se logró aislar Lisozima con una pureza mayor del 95% sin necesidad de aplicar un método cromatográfico, que suele ser el más costoso de los métodos de purificación de proteínas.

Agradecimientos: A la Escuela de Educación Secundaria Agraria N°1 de Quilmes por proveer los huevos de gallina de menos de 12 horas de postura de su granja.

Palabras Clave: Ovoproductos, Enzima, Purificación de proteínas, Clara de huevo, Biotecnología.