**Efecto de la superpoblación molecular sobre la termoestabilidad y la actividad de β-Gal. Optimización de la actividad de β-Gal para la producción de GOS**

Rosales JA (1,2), Labuckas D (2,3), Perillo MA (1,2), Nolan V (1,2).

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT) UNC-CONICET, Córdoba, Argentina.

(2) Universidad Nacional de Córdoba, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA), Córdoba, Argentina.

(3) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBiV) UNC-CONICET, Córdoba, Argentina.

Joel.rosales@mi.unc.edu.ar

La β-galactosidasa o lactasa [EC 3.2.1.23] (β-Gal), es una enzima soluble que cataliza la hidrólisis de lactosa en los monosacáridos que la constituyen, glucosa y galactosa. Además, y dependiendo de las condiciones del medio, fundamentalmente alta concentración de lactosa, la β-Gal cataliza la reacción de transgalactosilación cuyos productos son los Galacto-oligosacáridos (GOS). Los GOS son oligosacáridos no digeribles formados por entre 2 y 20 unidades de galactosa y una unidad de glucosa. Son considerados prebióticos debido a que no son atacados por las enzimas digestivas presentes en el estómago y la primera región del intestino, y llegan intactos al colon en donde se convierten en sustrato para el crecimiento de bacterias beneficiosas como las bacterias lácticas y bifidobacterias. La producción de GOS se ve favorecida sobre la reacción de hidrólisis en ciertas condiciones como: alta concentración de lactosa, alta temperatura de reacción que permita la solubilización de esa alta concentración de lactosa, y una baja disponibilidad de agua libre. Estas condiciones experimentales pueden ser logradas si la reacción se lleva a cabo en un medio macromolecularmente superpoblado. Un sistema superpoblado se define como un medio donde existe alta concentración de diferentes macromoléculas que ocupan una importante fracción de volumen que no puede ser ocupado por otras moléculas. El citoplasma, muchos alimentos y la leche son ejemplos de sistemas superpoblados. En el presente trabajo, se estudió el efecto de la superpoblación molecular sobre la actividad y termoestabilidad de la β-galactosidasa de *Kluyveromices lactis*. PEG6000, un polímero no cargado, altamente hidrofílico, y con efectos bien descriptos sobre la estructura y dinámica del agua, se utilizó como agente superpoblante. La producción de GOS y del resto de carbohidratos (lactosa remanente, glucosa y galactosa) se midieron por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con detector de absorción UV. Previamente, los carbohidratos debieron ser derivatizados de manera tal de poder ser visualizados por UV. Los resultados obtenidos muestran que: i) la superpoblación molecular protege a la enzima de la desnaturalización térmica; se observó que la enzima mantiene su actividad y la producción de GOS continúa aun cuando esta es expuesta durante un período de tiempo considerable a alta temperatura cuando está en presencia de agente superpoblante, mientras que en condiciones diluidas se desnaturaliza con la consecuente pérdida de actividad; ii) La producción de GOS se incrementa en condiciones de superpoblación molecular; iii) Altas concentraciones de carbohidratos también afectan positivamente la termoestabilidad de la enzima.

Palabras Clave: actividad enzimática, lactosa, prebióticos, leche, alimentos funcionalizados.