

EFFECTO DE LA INACTIVACIÓN TÉRMICA SOBRE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA PARED CELULAR DE *PICHIA KUDRIAVZEVII*

Marina Celeste Rodríguez^{1,2}; María del Pilar Monge^{1,2}; Alejandra Paola Magnoli^{2,3}; Stella Maris Chiacchiera^{1,2}

¹Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología (IMICO) - (CONICET). Universidad Nacional de Río Cuarto - Ruta 36. Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

²Instituto de Ciencias Veterinarias (INCIVET) - (CONICET). Universidad Nacional de Río Cuarto - Ruta 36. Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
E-mail: mcrodriguez@exa.unrc.edu.ar

OBJETIVO

- El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inactivación térmica en la composición química de la pared celular de *Pichia kudriavzevii* expuesta a AFB₁.

INTRODUCCIÓN

- La incorporación de levaduras a la dieta de pollos parrilleros ha demostrado ser eficaz en la prevención de las aflatoxicosis (Magnoli y col., 2017) por adsorción de aflatoxina B₁ (AFB₁), mediante su interacción con componentes de la pared celular (Yiannikouris y col., 2003). El espectro Infrarrojo de las levaduras es complejo como resultado de la contribución de los distintos componentes químicos presentes en las mismas. En particular, la técnica de DRIFT, solo permite evaluar las estructuras superficiales de la célula. Por lo que es importante recordar que la porción externa o pared celular está compuesta principalmente de mananoproteínas y β-glucanos (85-90% de la masa seca de la pared celular) y una cantidad menor de quitina (1-3%) y lípidos (2-5%).

MATERIALES Y MÉTODOS

- P. kudriavzevii* se aisló de piensos según la metodología propuesta por Fraga y col., 2007. Las levaduras se inactivaron por calor. Para verificar la variación en la composición de la pared celular luego de la inactivación térmica se realizó la espectroscopia infrarroja (IR). Las mediciones se realizaron en un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum Two FTIR, munido con un accesorio de reflectancia difusa (Spectrum Two DRIFT Accesory). La integridad de la muestra se verificó tomando como criterio los espectros infrarrojos disponibles en la literatura.

RESULTADOS

- En el gráfico se marcan las principales diferencias observadas. El proceso de inactivación térmica genera varios cambios en el espectro DRIFT de la levadura:
 - Presencia de una banda ancha de baja intensidad alrededor de 2800 cm⁻¹ (Flecha 1) en LV atribuible a lípidos neutros o fosfolípidos.
 - Pérdida de lípidos neutros (zona de los C=O, Flecha 2),
 - Pérdida de agua ligada, responsable de la banda de adsorción intensa a 3500 cm⁻¹ (Flecha 3).
 - Hombro observado en la región de la Flecha 4 refuerza la asignación de la banda a 2600 cm⁻¹ al estiramiento O-H de los fosfolípidos ácidos.
 - Disminución en la región de la banda Amida I (Flecha 5)
 - Aumento de la intensidad de las bandas correspondientes a los estiramientos C-H en las levaduras inactivas, presentes en los lípidos (Flecha 6).
 - Banda Amida II resultante de la flexión N-H y del estiramiento C-N (Flecha 7).
 - En ambos espectros se pueden apreciar las absorciones a 3300 cm⁻¹ características de los estiramientos -O-H presente en los monosacáridos constituyentes de los β-glucanos (Flecha 8).

Espectros en unidades de A normalizados en la banda de escasa intensidad a 850 cm⁻¹ (glicógeno), constante e independiente de la cepa.

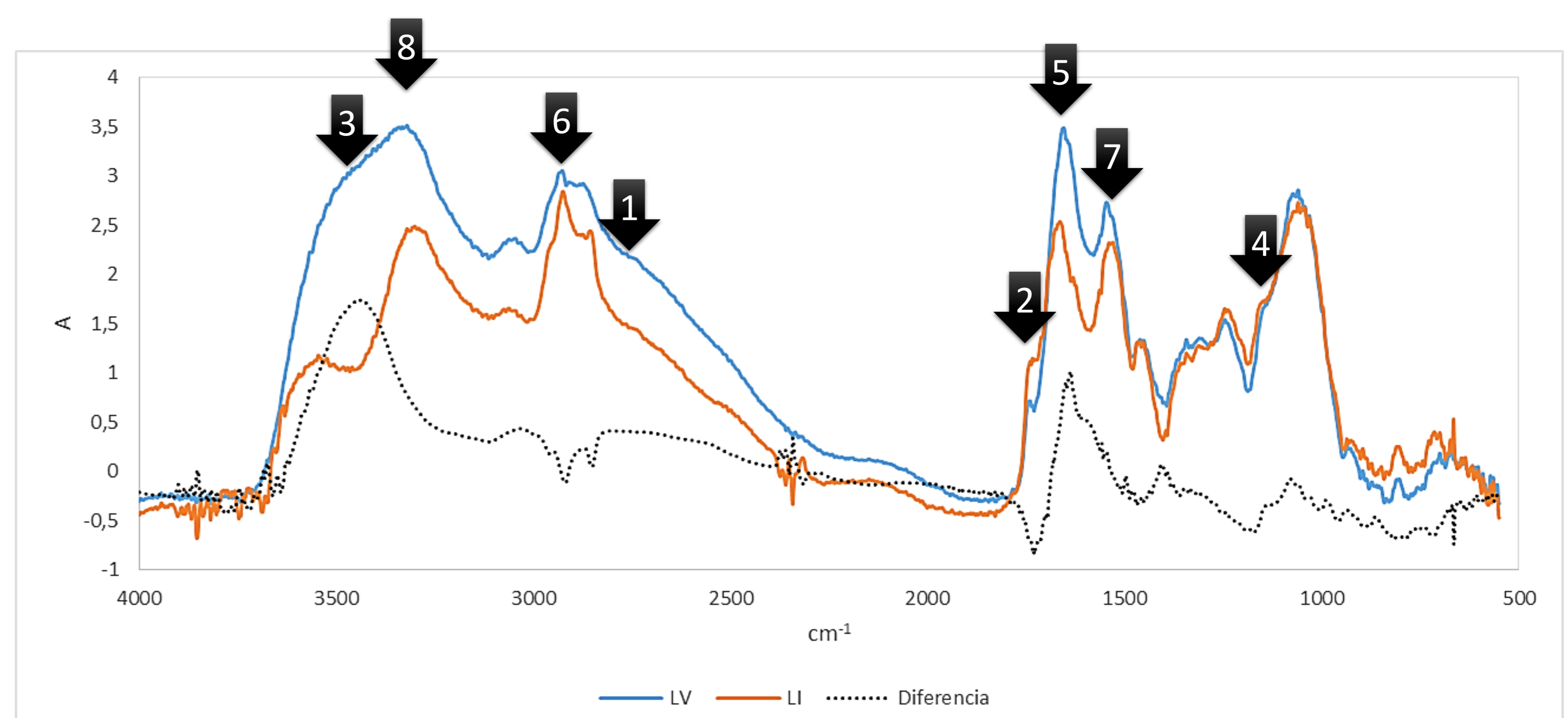


Figura 1: Espectro DRIFT de las levaduras viables e Inactiva. (LV: levadura viable. LI: levadura inactiva)

CONCLUSIÓN

- La inactivación térmica:
 - No afecta la estructura de los glucanos de la pared.
 - Altera la composición lipídica superficial aumentando los lípidos neutros.
 - Altera la estructura secundaria de las proteínas.
 - No se descartan cambios a nivel de fosfolípidos y/o a una alteración en la afinidad de la levadura por los fosfatos de la solución reguladora (LV tendría mas afinidad por fosfato que la LI).
 - Los cambios estructurales observados por DRIFT estarían relacionados con aumento del espesor de la pared celular observado por TEM en estudios previos (Rodríguez y col., 2019).
- En conclusión, no se esperarían cambios en la capacidad de la levadura para adsorber AFB₁ como consecuencia de la inactivación térmica.

REFERENCIA

- Magnoli, A.P. Mycotoxin Res, 2017. ISSN 0178-7888.DOI 10.1007/s12550-017-459 0285-y
- Yiannikouris, A. Biotechnol. Lett., 2003, 25: 783-789.
- Casal, H.L. Biochim. Biophys. Acta, 1973, 919: 275-286.
- Zimkus, A. Open LifeSci. 2013, 8(8).
- Suomalainen, H. Chem. Phys. Lipids, 1970, 4:247-256.
- Rodríguez, M.C. y col. 2019. XV Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2019), XIV Congreso Sociedad Argentina de Microbiología General (SAMIGE), V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (V CAMA) y V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos (CLAMME 2019).
- Fraga, M.E. Vet. Res. Commun. 2007, 31:343-353.
- Hansrot, M. (2013). Detection of somealiphatic amino acidsusing MALDI-TOF MS and FTIR.
- NIST ChemistryWebBook, NIST Standard Reference DatabaseNumber 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, NationalInstitute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>, (obtenido 7 septiembre 2019).

Agradecimientos

Los autores agradecen a FONCYT (Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica) y CONICET (Argentina), que apoyan este estudio a través de subsidios. Marina C. Rodríguez agradece a CONICET por el apoyo de becas. A.P.M, M.P.M y S.M.C. ocupan cargos en el CONICET.