

FUNCIONES TERMODINÁMICAS PARA LA TRANSFERENCIA DE LA ENZIMA QUITINASA DE UN MEDIO ACUOSO A LIPOSOMAS DE LECITINA DE SOYA

Lucía Cano, Antonio Juárez, Alejandra Sánchez, , José L. Martínez, Anna Iliná*
 Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Depto. de Biotecnología, Blvd. V. Carranza e Ing. J. Cárdenas V., C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México, Fax: 52-844-415-95-34,
 *e-mail: anna_ilina@hotmail.com

Palabras clave: liposomas, quitinasa, coeficientes de reparto.

Introducción. La quitinasa es una enzima que juega importante papel en biocontrol del crecimiento fúngico, así como en resistencia de plantas al ataque de hongos patógenos (1). Sin embargo, la aplicación de la enzima *in situ* necesita aumentar la estabilidad de la misma lo que puede ser logrado por medio de la microencapsulación en los liposomas. A diferencia al uso de los soportes sólidos el preparado inmovilizado mediante esta técnica no altera la heterogeneidad del sistema donde se aplica. La actividad antifúngica de esta enzima puede ser usada efectivamente como estrategia para el control biológico de plagas (1).

En el presente trabajo se evaluaron los parámetros termodinámicos del proceso de encapsulación de la enzima en los liposomas multilaminares de lecitina de soya.

Metodología. Se utilizó la lecitina comercial (PROQLIMS) la cual fue parcialmente purificada con una mezcla de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1 (v/v). Utilizando 1 mL de la solución metanólica de lecitina en presencia de 0.1 mL de benceno mediante la evaporación de la mezcla a 50°C se formó una capa delgada en la superficie de un matraz bola de 2 L, la cual fue hidratada con 5 mL de buffer de acetatos 0.1 M a pH 5.5 o solución de quitinasa (SIGMA) a 5, 10, 15 y 20 µg/ml en el mismo buffer durante 0.5 h (1). Los liposomas fueron incubados por 24 h para su maduración a 4, 25 y 40°C. La concentración de proteína fue evaluada mediante la técnica de Bradford en las soluciones utilizadas para la inmovilización y en sobrenadantes obtenidos después de centrifugación y precipitación de liposomas. Los parámetros termodinámicos se calcularon de acuerdo al procedimiento descrito por Ávila y Martínez (2). Los coeficientes de reparto entre fase acuosa y orgánica se calcularon mediante la ecuación: $K = W_{\text{aq}}(C_0 C_f) / (C_f W_{\text{org}})$, donde W_{aq} y W_{org} es el peso de la fase acuosa y orgánica, C_0 y C_f la concentración de proteína en solución inicial y en sobrenadante; se cuantificó $\Delta G_{w \rightarrow o} = -RT \ln K$, el ΔH se calculó a partir de la tangente de la recta en coordenadas de Van't Hoff y cambio de ΔS a partir de ΔG y ΔH a temperatura de 25°C (2).

Resultados y discusión. Los coeficientes de reparto disminuyen con el aumento de la temperatura pero son mayores que la unidad (Tabla 1) lo que indica a la movilidad de la enzima desde la fase acuosa a la lipídica. El ΔG negativo para todos los casos demuestra que el proceso es espontáneo y termodinámicamente favorable. Los valores correspondientes al ΔH resultaron ser

negativos lo que indica que el proceso de microencapsulación de quitinasa en liposomas de soya es exotérmico. El valor de ΔS es mayor a menores concentraciones de enzima lo que demuestra aumento de grado de desorden en el sistema al disminuir la concentración de la proteína. Todas las funciones disminuyen al aumentar la concentración de enzima aplicada y la temperatura.

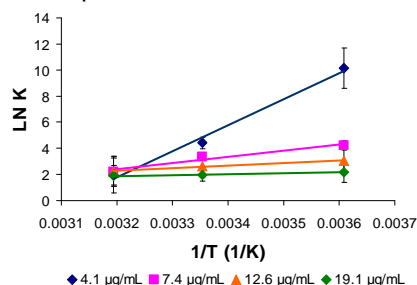


Fig. 1. Gráfico de Van't Hoff para coeficientes de reparto en sistema agua/liposomas de lecitina de soya en presencia de diferentes concentraciones de quitinasa

Cuadro 1. Determinación de los parámetros termodinámicos para el proceso de microencapsulación de la enzima quitinasa

[Enzima] µg/mL	Temperatura (°K)	$K_{w \rightarrow o}$	ΔG , kJ/mol a 25°C	ΔH , kJ mol ⁻¹ a 25°C	ΔS , J mol ⁻¹ K ⁻¹ a 25°C
4.1	277.15	25242.5	-203.72	-166.3	125.44
	298.15	82.18			
	313.15	6.98			
7.4	277.15	69.53	-71.57	-39.3	108.14
	298.15	28.87			
	313.15	9.27			
12.6	277.15	20.87	-34.72	-16.0	62.72
	298.15	14.01			
	313.15	9.24			
19.1	277.15	8.60	-17.20	-5.5	39.31
	298.15	6.94			
	313.15	6.59			

Conclusiones. Fue demostrado que el proceso de inmovilización de quitinasa en los liposomas de lecitina de soya es un proceso exotérmico termodinámicamente favorable a menores concentraciones de la proteína y menores temperaturas.

Conclusiones. Al Proyecto SEP-CONACyT 57118.

Bibliografía.

Cano Salazar L., León Joubanc E., Pérez Molina A., Iliná A., Martínez Hernández J.L. (2008) Encapsulación de enzimas hidrolíticas en liposomas: perspectivas de aplicación en agricultura. *Ciencia Cierta* 15: 22-25.
 Ávila, C., Martínez F. (2003). Thermodynamics of Partitioning of Benzocaine in Some Organic Solvent/Buffer and Liposome Systems. *Chem. Pharm. Bull.* 51: 237-240