



POLIMERIZACIÓN DE LACTONAS CON LIPASAS DE *Yarrowia lipolytica* EN SOLVENTES IÓNICOS

Karla A. Barrera-Rivera, Arturo Flores-Carreón y Antonio Martínez-Richa*

Facultad de Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, 36050 Guanajuato, Gto. México. Tel./Fax: (473)7320006 ext 8111. Correo electrónico: richa@quijote.ugto.mx

Palabras clave: lipasas, biocatálisis, *Yarrowia lipolytica*.

Introducción. La biocatálisis se puede definir como el uso de enzimas o células como biocatalizadores en la industria de la química sintética (1). Las enzimas son consideradas como catalizadores naturales. Las enzimas microbianas son más útiles que las enzimas derivadas de plantas o animales debido a la amplia variedad de actividades catalíticas disponibles, facilidad de manipulación genética, rápido crecimiento de los microorganismos en medios muy baratos, son más estables y su producción es más segura (2). *Yarrowia lipolytica* es un hongo dimórfico natural que forma células levaduriformes, pseudohifas e hifas septadas. Es importante porque se ha estudiado el dimorfismo de este hongo y porque secreta al medio de cultivo lipasas, proteasas alcalinas o ácidas, RNAsas, fosfatasas, esterases, α -manosidasas (3). En la actualidad, las lipasas se han utilizado para la síntesis de poliésteres en presencia o ausencia de disolventes orgánicos. A partir de reacciones biocatalíticas es posible desarrollar tecnologías limpias y sustentables, además de poder sintetizar materiales que no pueden ser obtenidos mediante métodos químicos. El uso de líquidos iónicos en reacciones enzimáticas representa una alternativa interesante para la síntesis de materiales que no se pueden obtener mediante métodos químicos. Al utilizar líquidos iónicos no se observa la inactivación de la enzima que se presenta con disolventes orgánicos, se disminuye el tiempo de reacción y aumentan los pesos moleculares de los productos (4).

El objetivo de este trabajo es utilizar lipasas de *Yarrowia lipolytica* en la polimerización de lactonas en presencia de disolventes iónicos.

Metodología. La producción y determinación de actividad de lipasa se realizaron utilizando el método descrito por Barrera *et al* (2006). La estabilidad de lipasa se evaluó utilizando el método descrito por Sheldon *et al* (2005). La síntesis y caracterización de líquidos iónicos se realizó utilizando el método descrito por Zhao *et al* (2003). Polimerización de la ϵ -CL.- la reacción se realizó en masa, se hicieron reaccionar ϵ -CL, enzima en diferentes concentraciones y solventes iónicos. Se incubó a diferentes temperaturas, bajo atmósfera inerte y durante varias horas. El grado de polimerización (DP) y el grado de avance de reacción (p) fueron determinados por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H en un equipo Varian Gemini 200 usando (CDCl_3) como disolvente y (TMS) como estándar. El polímero también fue caracterizado por las técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopia infrarroja (IR) y MALDI-TOF.

Resultados y discusión. Se utilizaron distintos ácidos grasos como inductores en la producción de lipasas (tributirin, triacetin, aceite de oliva y aceite comercial usado) contenidos en medio de cultivo YNB para observar si ocurrían cambios en la morfología colonial y celular de *Y. lipolytica*. Se estudió el efecto de los líquidos iónicos sobre la estabilidad de la enzima y su capacidad para polimerizar ϵ -CL. Se observó que la lipasa presentó una mayor estabilidad en función del tiempo y la temperatura al utilizar líquidos iónicos, en comparación con solventes orgánicos, en los cuales se presenta una inactivación de la enzima. Se lograron sintetizar y caracterizar cuatro líquidos iónicos (tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio, tetrafluoroborato de 1-butilpiridinio, nitrato de 1-etil-3-metilimidazolio, tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio y trifluoroacetato de 1-butilpiridinio). En la polimerización de la ϵ -caprolactona se evaluaron los efectos de la concentración de enzima, concentración de solventes iónicos, temperatura y tiempos de reacción. Se obtuvieron polímeros con pesos moleculares entre 329-8100 Da, este tipo de polímeros presentan una distribución unimodal (DSC) y presentan poca cristalinidad (WAXS y FTIR).

Conclusiones. Las lipasas extraídas a partir de *Y. lipolytica* son eficientes catalizadores en la polimerización de lactonas cuando se utilizan líquidos iónicos, obteniéndose poliésteres con arquitectura telequelica α -hidroxi- ω -carboxílico de altos pesos moleculares en tiempos cortos de reacción y con morfología donde predomina la fase amorfa, este factor es interesante debido a que una de las aplicaciones de este tipo de poliésteres es la liberación controlada de fármacos.

Bibliografía.

1. Tyler, J., Simurdiak, M. R., Zhao, H. (2006). Biocatalysis. En: *Encyclopedia of Chemical Processing*. Taylor and Francis. 101-110.
2. Hasan F., Shah A., Hameed A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology* (39). 235-251.
3. Barth G., Gaillardin C. (1996). *Yarrowia lipolytica*. En: *Nonconventional yeasts in Biotechnology* (Wolf, K., Ed.), A Handbook. Springer, Berlin, Heidelberg, New York. 313-388.
4. Heise A., Marcilla R., de Geus M., Mecerreyes D., Duxbury C. J., Koning C. E. (2006). Enzymatic polyester synthesis in ionic liquids. *European Polymer Journal* (42). 1215-1221.
5. Barrera-Rivera K. A., Flores-Carreón A., Martínez-Richa A. (2006). Synthesis and Characterization of poly(ϵ -caprolactone) obtained by enzymatic polymerization with *Yarrowia lipolytica* lipase. *Polymer Preprints* 47(2), 277-278.
6. Sheldon R. A., Secundo F., van Rantwijk F. (2005). Structure and stability of *Candida antarctica* lipase B in ionic liquids. *Green Chem.*, (8), 282-286.
7. Zhao H., Malhorta S. V., Luo R., G. Preparation and characterization of three room-temperature ionic liquids. *Physics and Chemistry of Liquids*. Vol 41(5). 487-492.