



ESTABILIDAD EN SOLVENTES ORGÁNICOS POLARES DE LIPASAS PRODUCIDAS POR HONGOS TERMOTOLERANTES EN FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

Blanca E. Hernández-Rodríguez, Jesús A. Córdova-López, Eduardo Bárzana-García, Ernesto Favela-Torres
Universidad Autónoma Metropolitana-I. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina. C.P. 09340. fax (55) 58 04 65 54
blancaeli_hr@yahoo.com.mx

Palabras clave: estabilidad, solventes orgánicos, lipasas

Introducción. A partir de la década de los 80's comenzaron a surgir trabajos de investigación que probaron la efectividad de las lipasas como biocatalizadores en diversas reacciones de síntesis, empleando como medio de reacción solventes orgánicos (1). Por tanto, estudiar los factores que modifican y promueven la estabilidad y actividad catalítica de estas enzimas en medios orgánicos es de especial interés para la industria biotecnológica, a fin de lograr el desarrollo y mejora continua de los procesos industriales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la estabilidad de lipasas producidas en fermentación en medio sólido (FMS) por dos cepas de hongos termotolerantes 19 y 43aIV (*Rhizopus* sp.) en función del momento dipolar de diferentes solventes orgánicos.

Metodología. Una vez establecidas las condiciones de la FMS y empleando agrolita como soporte inerte, se llevó a cabo la producción de lipasas por las cepas 19 (C-19) y 43aIV (C-43). La materia fermentada fue liofilizada a -50°C por 12 h. Los sólidos resultantes (biocatalizadores) fueron empleados para evaluar la actividad residual (%AR) de las lipasas después de incubarlos por 1h a temperatura ambiente en solventes orgánicos. Posteriormente, el solvente se removió haciendo pasar una corriente de aire por 2 min. La actividad enzimática se midió en base al ácido oléico: a) residual durante la síntesis de oleato de etilo (OE) en heptano y b) liberado durante la hidrólisis de los triglicéridos del aceite de oliva (AO) en medio acuoso. Se utilizaron los siguientes solventes (el número indica el momento dipolar μ del solvente): No polares (decano D/0, hexano H/0, tolueno T/0.36), polares próticos (isopropanol IP/1.66, etanol E/1.69) y polares apróticos (tetrahidrofurano THF/1.63, acetato de etilo AE/1.78, acetona A/2.88, acetonitrilo ACN/3.2).

Resultados y discusión. Como se presenta en la Figura 1, ambas enzimas conservan actividad residual mayor al 80% en solventes no polares (D, H, T) debido posiblemente a la retención de la monocapa acuosa sobre la proteína, que le confiere flexibilidad estructural, necesaria para conservar la actividad catalítica (1). Así mismo, con el isopropanol se obtuvieron valores de $\text{AR} > 70\%$. Sin embargo, el etanol redujo considerablemente la estabilidad de los biocatalizadores; más de 80% y 50% de reducción en las reacciones de hidrólisis y síntesis respectivamente. Esto se debe probablemente, a que las moléculas de etanol que quedaron atrapadas en el sitio activo de la enzima, pudieron ser desplazadas por el ácido oleico, debido a la naturaleza hidrofóbica de esta región. Por otro lado, se observó que los solventes polares apróticos (THF, acetona, acetato de etilo y acetonitrilo) no afectan sensiblemente la estabilidad de las lipasas C-19 en la síntesis de

OE y C-43 en la hidrólisis de AO. Lo anterior confirma la interacción entre los solventes polares apróticos y el sitio activo de la enzima, que influyen en el nivel de hidratación requerido para la actividad enzimática (2). Es importante señalar que la estabilidad obtenida en solventes polares apróticos no es una propiedad común de las enzimas, principalmente en acetona y en acetato de etilo, lo cual es interesante desde el punto de vista tecnológico ya que estos solventes cuentan con la aprobación de la CEE (88-344-EEC) para la manufactura de alimentos (3).

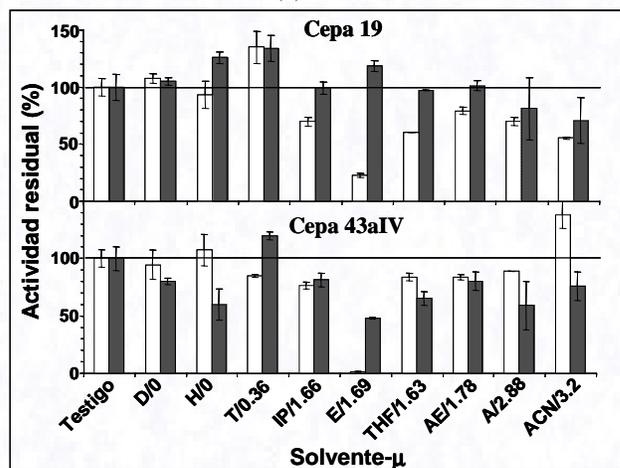


Fig. 1. Actividad residual de lipasas en función del momento dipolar (μ) de solventes orgánicos. Las barras blancas corresponden a la actividad de hidrólisis y las barras negras a la actividad de síntesis

Conclusión. Los biocatalizadores estudiados pueden ser utilizados en procesos catalíticos biosintéticos, principalmente en solventes polares apróticos ($\text{AR} > 80\%$), lo cual les confiere ventajas tecnológicas por su moderada toxicidad, bajos puntos de ebullición, bajo costo y la posibilidad de solubilizar un amplio rango de sustratos hidrofóbicos.

Agradecimiento. Hernández-Rodríguez agradece la beca de posgrado otorgada por CONACyT

Bibliografía.

- Bornscheuer, U, Bessler, C, Srinivas, R, Krishna, S. (2002). Optimizing lipases and related enzymes for efficient application. *Trends Biotech.* 20(10) 433-437
- Yang, L, Dordick, J, y Garde, S. (2004). Hydration of Enzyme in Nonaqueous Media Is Consistent with Solvent Dependence of Its Activity. *Biophys. J.* 87:812-821.
- Lima V, Krieger N, Mitchell D, Fontana J. (2004). Activity and stability of a crude lipase from *Penicillium aurantiogriseum* in aqueous media and organic solvents. *Biochem.Eng. J.* 18:65-71.