



LIPASAS DE ORIGEN FÚNGICO CON ATRACTIVAS APLICACIONES: PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN

Janny Coca Armas, Julio Dustet Mendoza, José L. Hernández Martínez

Grupo de Biotecnología, Fac.de Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico José A. Echeverría. Habana Cuba.

Dpto. de Biotecnología, Fac. de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo,

Coahuila, México. Tel. 415-15-57-52, Fax: 415-95-34, Email: martính@usquim.uadec.mx

Palabras clave: lipasa, fermentación sumergida, hongos.

Introducción. La demanda de enzimas industriales de origen microbiano, está creciendo debido a sus aplicaciones en un gran número de procesos. Por tanto la obtención y evaluación de nuevas lipasas constituye un punto de partida para el desarrollo de un proceso industrial, tomando en cuenta que las enzimas existentes en la naturaleza son aún desconocidas y pudieran ser muy versátiles respecto a su comportamiento catalítico.

El objetivo del presente trabajo es estudiar la producción de la enzima lipasa a partir del empleo de tres cepas de hongos y diferentes sustratos y caracterizar a las tres enzimas respecto al efecto del pH y la temperatura sobre la actividad y estabilidad y por último, evaluar la selectividad de las enzimas en reacciones de hidrólisis asimétricas.

Metodología. A partir del desarrollo de los cultivos de: *Aspergillus niger* J-1, *Aspergillus fumigatus* H/55.1.1 y *Mucor griseocyanus* H/6.17.3 se obtuvieron los crudos de lipasas. Se empleó un medio salino y sulfato de amonio y aceite de oliva como fuentes de nitrógeno y carbono respectivamente. Se evaluaron otros sustratos como fuente de carbono: almidón, glicerol, aceite de coco, aceite de girasol, glucosa y sacarosa. Se siguió la cinética de crecimiento y actividad durante 8 días. Los crudos enzimáticos obtenidos se caracterizaron respecto a su actividad y estabilidad. Posteriormente los crudos enzimáticos se inmovilizaron en soporte selectivo gel octil agarosa y fueron utilizados para catalizar la hidrólisis asimétrica del (R,S)-mandelato de metilo (MM) y de las especies R y S del fenil glicinato de metilo (FGM).

Resultados y discusión. La fuente de carbono más apropiada para la producción de lipasas fue: sacarosa y aceite de oliva, al 2% cada una de ellas, para *A. niger*; aceite de oliva y glucosa, al 2% cada una de ellas, para *A. fumigatus* y aceite de coco y sacarosa al 0.5% y 1.5% respectivamente para *M. griseocyanus*. A continuación se muestra un resumen de los resultados

Tabla 1 Valores promedios de crecimiento y actividad de de los tres cultivos estudiados.

Microorganismo	Peso seco (g/L)	Actividad (UI/mL)
<i>A. niger</i>	25.0	1.47
<i>A.fumigatus</i>	18.6	0.105
<i>M. griseocyanus</i>	13.5	0.113

Solo la cepa de *M.griseocyanus* sintetizó la enzima de interés de forma constitutiva.

Las lipasas de *A. niger*, *A. fumigatus* y *M. griseocyanus* exhibieron su mayor efecto catalítico a 40, 60 y 80°C respectivamente. Aunque las lipasas de *A. niger* y *A.*

fumigatus conservaron el 100% de su actividad a temperaturas entre 20 y 40°C y en un medio neutro durante 24 horas, la enzima de *M. griseocyanus* sólo conservó parte de su actividad a pH 6 y 40°C durante 5 horas aproximadamente.

Con relación al estudio de la selectividad, se comprobó que las enzimas evaluadas exhibieron cierta enantiopreferencia hacia el isómero R del ester MM, siendo las enantioselectividades del mismo orden a las reportadas para lipasas comerciales (2).

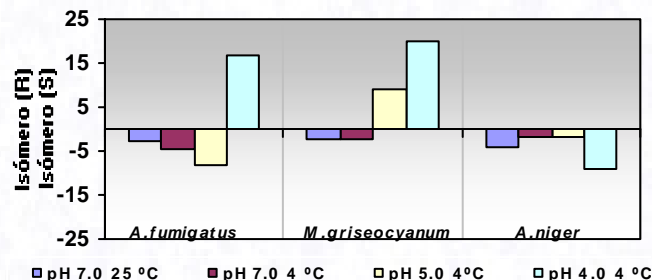


Fig. 1. Efecto del pH y la temperatura sobre la enantioselectividad de las lipasas en la hidrólisis del MM.

Las lipasas de *A. fumigatus* y *M. griseocyanus* exhibieron una gran enantiopreferencia por el isómero S del MM a pH 4 y 4 °C, mientras que la de *A. niger* mostró preferencia por la hidrólisis del isómero S en esas mismas condiciones de reacción.

En la hidrólisis del FGM, las lipasas de *A. fumigatus* y *A. niger* inmovilizadas sobre gel octil manifestaron una gran estereoespecificidad por la hidrólisis de la especie R del éster (Q=100) al igual que la de *M.griseocyanus* (Q=40), y significativamente mayor a la exhibida por lipasas comerciales a pH 5 y 4 °C.

Conclusiones. Se obtuvo que la lipasa expresada por la cepa de *M.griseocyanus* se sintetizó de forma constitutiva. Se comprobó que las condiciones de reacción modificaron la selectividad de la enzima, no siendo el efecto de igual magnitud para todas las enzimas estudiadas. Las lipasas evaluadas mostraron características atractivas para posibles futuras aplicaciones de las mismas .

Bibliografía.

- D. Reyes-Duarte, N. López-Cortés, M. Ferrer, F.J. Plou, G. Fuentes, M. Ballesteros (2005). Parameters affecting productivity in the lipase-catalysed synthesis of sucrose palmitate. *Biocatalysis Biotrans.* 23: 19-27.
- Coca J. (2002). Obtención de derivados inmovilizados de lipasas con características estereoselectivas para su aplicación en procesos de Química Fina. ISPJAE, Cuba.