

Estudio de las propiedades catalíticas de la lipasa de *Bacillus pumilus* GMA1

Amelia Farrés y Patricia Wong

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM.
Circuito de la Investigación s/no. Conjunto "E" lab. 312 Cd. Universitaria
Coyoacán 04510, México, D.F. Fax. 56-22-53-09, farres@servidor.unam.mx

Palabras clave: surfactantes, estabilidad enzimática, actividad residual

Introducción. Las lipasas termoactivas y, en general. Aquellas que presentan actividad en ambientes extremos, han cobrado importancia industrial dado que sus características las hacen más adecuadas para procesos que requieren de condiciones que resultan desnaturalizantes para la mayoría de las enzimas. *Bacillus pumilus*, microorganismo de reciente aislamiento, manifiesta actividad lipolítica en un rango de 45- 50°C y pH 10.0, y conserva el 63% de su actividad a 60°C durante 30 minutos; estos valores representan propiedades interesantes, no comunes en muchas lipasas.

Metodología. La estabilidad del extracto crudo frente a diferentes valores de pH y temperatura fue determinada espectrofotométricamente a 410nm por el método de ONFL. En el primer caso se incubó la lipasa durante 12 y 24 horas a diferentes valores de pH. Los amortiguadores (0.1M) utilizados fueron: pH de 6.0-8.0 con fosfatos, pH 8.5-10.5 con CHES y pH 11.0-11.5 con fosfatos/NaOH. Mientras que para el ensayo de temperatura. Se determinó la actividad residual después de incubar en CHES 0.1M pH 10. El efecto de surfactantes y cationes sobre la actividad se analizó por incubación de la enzima durante 1h a 30°C en amortiguador fosfatos 0.1M, pH 8 y se determinó la actividad residual. Finalmente, se evaluó el efecto de solventes hidrofóbicos sobre la actividad lipolítica a valores controlados de Aw (0.1-0.75).

Resultados y Discusión. Respecto a las velocidades de inactivación los resultados indican que, la lipasa conserva su actividad en un rango de pH 9-10 durante las 24 horas de incubación. Y al evaluar la estabilidad frente a temperatura, conserva la actividad lipolítica en un rango entre 40-50°C, mientras que decrece un 50% después de 30 min de incubación. El efecto de surfactantes no iónicos como el Span 80 y Tween 80, producen un incremento de la actividad lipolítica a baja concentración. Esto coincide con lo observado para la lipasa de *B. pumilus* donde el Tween 80 provocó un incremento del 30% al 0.1%, y el Span 80 no tuvo efecto al 0.1%, pero si disminuyó la actividad en un 10% al 1% de concentración. El Triton no tuvo un efecto significativo (< 10%). En el caso de *B. pumilus* se ensayaron los cationes Cu²⁺, Ca²⁺ y Fe²⁺, obteniendo un efecto negativo para el Cu²⁺ y Fe²⁺ en ambas concentraciones, con una severa disminución para el ion Cu²⁺ a concentración 10mM. También se observa un incremento en la actividad con la presencia de Ca²⁺ en concentración 1mM, comportamiento que se ha observado en diferentes lipasas.

Respecto al SDS, provocó una disminución del 70% a concentración 10mM.

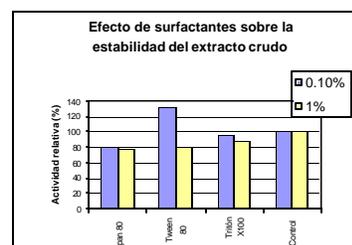


Fig. 1 Efecto de los detergentes (0.1 y 1%) sobre la actividad lipolítica del extracto crudo

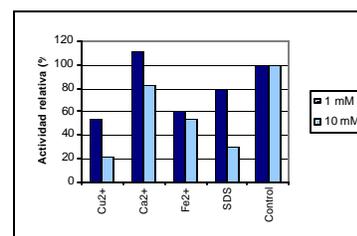


Fig. 2 Efecto de los iones divalentes Cu²⁺, Ca²⁺ y Fe²⁺ y el compuesto SDS sobre la actividad lipolítica.

Conclusiones. La estabilidad de la actividad frente a temperatura de ambas lipasas, las hacen adecuadas para su utilización en catálisis con solventes. El Tween 80 es un surfactante que ayuda a estabilizar la actividad lipolítica y produce un incremento a diferentes concentraciones (0.1% y 1%). El efecto del SDS a altas concentraciones produce una severa disminución de la actividad para la enzima.

Bibliografía

- Valivety, H., Halling, P. Peilow, A., and Macrae, A. (1994) Relationship between water activity and catalytic activity of lipases in organic media. *J. Biochem.* 222, 461-466.
- Kiran KR, Divakar S. (2001) Lipase catalyzed synthesis of organic acid esters of lactic acid in non-aqueous media. *J Biotechnol.* 4;87(2):109-21