



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE INVERTASA LIBRE E INMOVILIZADA EN CERA DE CANDELILLA

Elda Segura, Damaris Mendoza, Ma. Auxiliadora Valdés, Anna Iliná
Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas. Saltillo, Coahuila. C.P. 25280.
psegura@uadec.edu.mx

Palabras clave: invertasa, cera candelilla, inmovilización.

Introducción. La hidrólisis de sacarosa es una gran actividad industrial, en la producción de jarabe invertido usado como dulcificante para varios países (1). Esta hidrólisis se puede llevar a cabo con ácido clorhídrico 75-80°C o por la invertasa (EC.3.2.1.26) en 35-45°C; si la invertasa se encuentra inmovilizada hay una mayor ventaja sobre el proceso químico en términos de economía de energía, seguridad ambiental y formación baja de subproductos (2). Existen reportes en donde la invertasa ha sido inmovilizada en una gran variedad de soportes usando diferentes técnicas de inmovilización (3,4).

El objetivo del presente trabajo es la inmovilización de invertasa por atrapamiento en cera de candelilla, la cual es originaria de las zonas áridas de México, principalmente del Estado de Coahuila (5).

Metodología. La inmovilización de la invertasa se llevó a cabo formando micelas inversas con la cera de candelilla, formadas por un disolvente orgánico solubilizando la enzima con un tensoactivo (aot). Posteriormente se realizaron las pruebas de actividad enzimática bajo diferentes condiciones de pH, temperatura, concentración de sustrato y tiempo de almacenamiento, proteína por el método de Bradford en la invertasa libre e inmovilizada y azúcares reductores por DNS.

Resultados. En la figura 1 se observa el espectro realizado por Infrarrojo Transformadas de Fourier (FT-IR) de la invertasa inmovilizada, donde la banda de 3455 correspondiente al grupo N-H se encuentra disminuida, lo que indica posibles interacciones entre la enzima y el soporte durante el proceso de inmovilización.

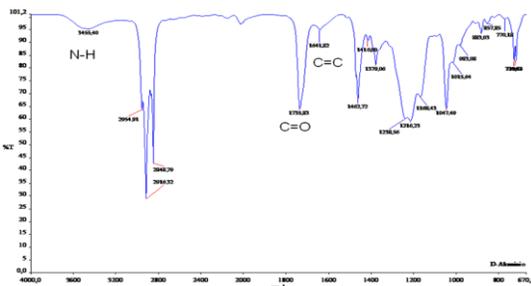


Fig. 1. Espectro de FT-IR de la invertasa inmovilizada.

La actividad de invertasa en su forma libre, se llevó a cabo bajo diferentes condiciones, obteniendo sus

parámetros óptimos de pH, temperatura y concentración de sustrato que se observan en la figura 2.

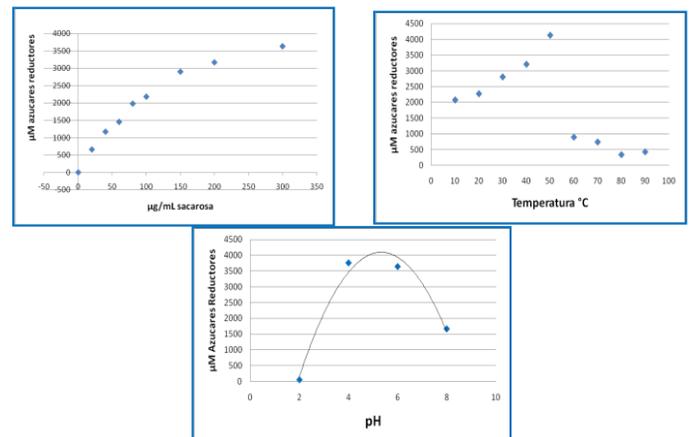


Fig. 2. Actividad de invertasa bajo diferentes condiciones de pH, temperatura y [Sustrato].

Una vez inmovilizada la enzima en la cera de candelilla, se evaluó su actividad por varios ciclos consecutivos y durante su almacenamiento, observando que ésta presenta una mayor estabilidad que en su forma libre; ya que después de 6 ciclos seguidos de uso mantiene su actividad un 66%; y al ser almacenada a temperaturas de -4°C por 16 días, pierde solo el 18% de su actividad.

Conclusiones. De acuerdo a los resultados se puede concluir que la invertasa puede ser inmovilizada en cera de candelilla formando interacciones entre los grupos NH del soporte, además una vez inmovilizada la enzima es más estable ya que mantiene su actividad hasta por más de dos meses durante su almacenamiento a -4°C, después de dos meses empieza a disminuir drásticamente la actividad de la invertasa. De igual manera la invertasa al ser inmovilizada resiste condiciones de pH y temperatura más altos que la invertasa en su forma libre.

Bibliografía.

- Geursel A, Alkan S, Toppare L. (2003). *Reactive & Functional Polymers*. 57; 57-65
- Ahmed S. (2008). *J of Applied Sciences Research*. 4(12): 1777-1781
- Kotwal S, Shankar V. (2009). *Biotechnology Advances*. 27: 311-322
- Haydar A, Serpil A, Hayrettin T. (2008) *Journal of Food Biochemistry* 32; 299-315
- Bosquez E, Badillo A, Guerrero I, y Vernon E. (2000). *Industria Alimentaria*. 22(1):14-29.