



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



TERMOESTABILIDAD Y EFECTO DE SOLVENTES ORGÁNICOS EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA LIPASA DIGESTIVA DE *Penaeus vannamei*

Claudia Ivette Maytorena Verdugo, Fernando Luis García Carreño, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Departamento de Biotecnología, La Paz, Baja California Sur, cmaytorena@cibnor.mx

Palabras clave: lipasas, solventes, termoestabilidad

Introducción. Las lipasas (EC 3.1.1.3; triacilglicerol acilhidrolasas) se definen como aquellas enzimas que hidrolizan triacilglicéridos para liberar ácidos grasos y glicerol (1). Las lipasas son un grupo versátil de biocatalizadores con diversas aplicaciones en biotecnología, ya sea como aditivos en detergentes, o en la producción de alimentos y saborizantes, fármacos, cosméticos y perfumería, y surfactantes (2). La creciente necesidad de enzimas resistentes a las condiciones de trabajo de algunos procesos industriales, como la síntesis de fármacos en donde se utilizan altas concentraciones de alcohol, hace indispensable la búsqueda de enzimas termoresistentes y que conserven la capacidad catalítica en presencia de solventes orgánicos (3). Las lipasas usadas en la industria son microbianas o de mamíferos, sin embargo las lipasas de organismos marinos presentan características con potencial biotecnológico como afinidad por diversos sustratos o estabilidad a condiciones extremas de pH. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad catalítica y termoestabilidad de la lipasa digestiva de *Penaeus vannamei* en presencia de solventes orgánicos.

Metodología. Se purificó la lipasa digestiva de *P. vannamei* siguiendo el protocolo de Rivera et al. (4). Se evaluó la actividad enzimática en presencia de solventes a concentraciones de 10 a 50% con 30 minutos de incubación a temperatura ambiente y 40 °C por fluorometría. Se evaluó acetona, metanol, etanol, propanol, butanol, hexano y dimetil sulfóxido. Se utilizó 100µM de MUF-Butirato como sustrato y 50 mM Tris-HCl pH 8.

Resultados. La actividad lipolítica aumento en concentraciones de 10 y 20% de metanol y hexano en la mezcla de reacción. En etanol 10% y en 20% propanol la actividad lipolítica decrece 25%. En acetona 10% y dimetil sulfóxido 10% la actividad disminuye 50 y 20% respectivamente. En butanol la actividad se perdió desde 10%. En la figura 1, se muestra un gel de electroforesis con SDS en donde se evidencia la estabilidad de la enzima en metanol y etanol. La temperatura óptima de esta lipasa es de 30 °C, por lo cual se estudio el efecto del metanol a 40 °C y se observó un aumento en la actividad lipolítica hasta 40% de solvente en la mezcla de reacción. A concentraciones de 50% la actividad lipolítica disminuyo 29% (Tabla 1).

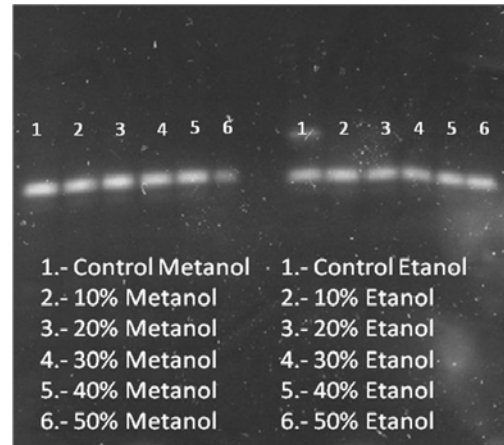


Fig. 1. Efecto de metanol y etanol en la actividad lipolítica. Zimograma para lipasas con SDS-PAGE 12% usando MUF-Butirato como sustrato. Los carriles señalan las concentraciones de solvente en la mezcla de reacción.

Tabla 1. Efecto de metanol en la actividad lipolítica a 40 °C. El porcentaje de solvente, se refiere al volumen del solvente en la mezcla de reacción.

% Solvente	10	20	30	40	50
Actividad residual	135.40 ± 4.72	140.37 ± 7.37	142.23 ± 2.08	104.34 ± 5.19	70.80 ± 7.21

Conclusiones. Se encontró que la lipasa digestiva de *Penaeus vannamei* es un potencial biocatalizador, ya que su estructura no solo es resistente a la desnaturalización por solventes, también estabiliza la enzima cuando se reta a temperaturas mayores a su temperatura óptima.

Agradecimiento. Se agradece a CONACYT por la beca 236062 y al proyecto SEP-2007-80935.

Bibliografía.

- (1) Sharma R, Chisti Y, Chand U. 2001. *Biotechnol Adv.* 19: 627-662.
- (2) Hasan F, Shah AA, Hameed A. 2006. *Enzyme and Microbial Technology.* 39: 235-251.
- (3) Gandhi, NN. 1997. *J Am Oil Chem Soc.* 74(6): 621-634
- (4) Rivera C, García F, Soborowski R. 2010. *Mar Biotechnol.* DOI: 10.1007/s10126-010-9298-7