

# SINTESIS DE ALQUIL-GLICOSIDOS CON $\alpha$ -AMILASA FUNGAL

Maria Luisa Díaz Chávez<sup>1</sup>, Rosa I. Santamaría<sup>2</sup> y Agustín López-Munguía<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Escuela de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

<sup>2</sup>Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, 62250, Morelos, MEXICO. Fax: (52) (73) 138811, e-mail: agustin@ibt.unam.mx

Palabras clave: *amilasa, transglicosidación, alquil-glicósidos*

**Introducción.**  $\alpha$ -amilasa es una enzima que hidroliza los enlaces  $\alpha$ -1,4 en almidón y oligosacáridos relacionados, manteniendo la configuración del carbono anomérico. Se ha reportado que muchas glicosidasas como la  $\alpha$ -amilasa, pueden transferir el residuo glicosilo (transglicosidación)<sup>1</sup> a aceptores diferentes al agua tales como azúcares o alcoholes (p.e. metanol)<sup>2</sup>. En el caso de estos últimos, el resultado de la transferencia son los alquil-glicósidos (AG), clasificados como surfactantes no iónicos y utilizados principalmente en la industria de los detergentes debido a su estabilidad en soluciones alcalinas y alta biodegradabilidad.

En el presente trabajo, se estudio la actividad transglicosidasa presente en  $\alpha$ -amilasa, particularmente enfocada a la síntesis de AG.

**Metodología.** Para llevar a cabo las reacciones de alcoholisis se utilizaron las enzimas  $\alpha$ -amilasa de *A. niger* y *B. licheniformis*, utilizando almidón soluble y alcoholes de diferente longitud de cadena. Las reacciones se realizaron en una y dos fases, durante 5 horas de reacción, analizando aspectos tales como el efecto de la temperatura, tipo de alcohol y concentración de substratos. Los productos de reacción se analizaron y cuantificaron indirectamente por HPLC.

**Resultados y Discusión.** En reacciones con almidón y metanol, empleando la amilasa de *B. licheniformis* para la obtención de metil-glicósido (MG), se observó que un incremento en la temperatura de reacción favorece las reacciones de transglicosidación ya que se obtuvo un incremento de cuatro veces la concentración de MG, al aumentar la temperatura de reacción de 60°C a 90°C. Un efecto similar se encontró al aumentar la concentración de almidón en el medio de reacción. Esto demuestra que la actividad transglicosidasa de las amilasas licuefactantes, tradicionalmente despreciable, puede verse mejorada mediante la optimización de las condiciones de reacción.

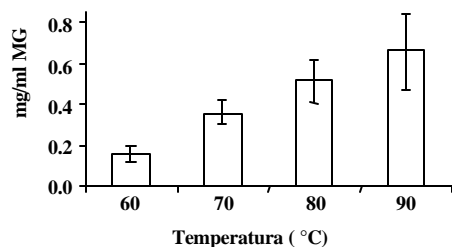


Fig. 1. Efecto de la temperatura en la formación de Metil-glicósidos (MG) con *Bacillus licheniformis*.

Por otro lado, la actividad transglicosidasa presente en *B. licheniformis* disminuyó al incrementar la longitud de cadena del alcohol. Se encontró una mejor actividad transferasa en la amilasa de *A. niger* por lo que se estudio la alcoholisis con esta enzima empleando butanol y hexanol, en sistemas de una y dos fases para obtener los correspondientes AG. Los resultados se presentan en la tabla I, donde se cuantifica el butil o hexil glucosido obtenido previa hidrólisis de los glicosidos con amiloglucosidasa. Los resultados muestran que la reacción en una fase es más eficiente. Esto es debido a la mayor solubilidad en agua que en los alcoholes de los AG con excepción del glucosido.

Cuadro 1. Partición de Butil (BG) o hexil (HG)-glucosido sintetizados en un medio alcohol-agua después de la adición de la glucoamilasa.

| Relación alcohol/agua | BUTANOL                   |                           | HEXANOL                   |                           |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                       | [BG] <sub>org</sub> mg/ml | [BG] <sub>lac</sub> mg/ml | [HG] <sub>org</sub> mg/ml | [HG] <sub>lac</sub> mg/ml |
| 0: 1                  | -----                     | 0.663*                    | -----                     | 0.500**                   |
| 1: 1                  | 0.241                     | 0.227                     | 0.505                     | 0.086                     |
| 2: 1                  | 0.079                     | 0.095                     | 0.229                     | 0.041                     |

\* Fase acuosa saturada con butanol (8% v/v). \*\* Fase acuosa saturada con hexanol (1% v/v)

**Conclusiones.** En este trabajo se desarrolló un sistema de reacción para la obtención de AG, analizando la importancia de diversos factores como la temperatura y la concentración de substratos. Los mejores resultados se obtuvieron con la amilasa de *A. niger* en presencia de hexanol en una sola fase. La baja solubilidad en alcohol que presentan tanto el almidón como los AG, fue una limitante para obtener mejores rendimientos en el proceso. La transglicosidación, es una actividad presente en  $\alpha$ -amilasa de manera natural, la cual puede ser mejorada mediante la manipulación del medio de reacción no solo para la obtención de AG, sino para lograr mejores rendimientos en la degradación del almidón.

**Agradecimiento.** Agradecemos la asistencia técnica del T.L. Fernando González M.

**Bibliografía.** 1. Ismail A., Soutani S., Ghouli M. 1999. Enzymatic-catalyzed synthesis of alkylglycosides in monophasic and biphasic systems. I. The transglycosylation reaction. *J. Biotechnol.* 69:135-143. 2. Santamaría RI, Del Río G, Saab G, Rodríguez ME, Soberón X, López-Munguía A. 1999. Alcoholysis reactions from starch with alpha-amylases. *FEBS Lett* 452(3):346-50. 3. Saab-Rincon G, del-Río G, Santamaría RI, López-Munguía A, Soberón X. 1999. Introducing transglycosylation activity in a liquefying  $\alpha$ -amylase. *FEBS Lett* 453(1-2):100-6.