

EMPLEO DE AZÚCARES COMO ESTABILIZANTES DE BIOMOLÉCULAS EN CONDICIONES DE BAJA DISPONIBILIDAD DE AGUA .

Florencia Mazzobre, Leila Burin y María del Pilar Buera

Departamento de Industrias. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1428 Buenos Aires. Argentina. Fax: (54) 11 4576 3366. e-mail: pilar@di.fcen.uba.ar

Palabras clave: azúcares, dehidroprotección, crioprotección.

Introducción. La preservación de biomateriales en medios congelados o deshidratados tiene amplia aplicación en industrias farmacéutica y de alimentos, como así también en áreas de biotecnología. Bajo esas condiciones, dichos biomateriales se encuentran en un ambiente de baja disponibilidad de agua y muchos azúcares se emplean en las formulaciones, en las cuales tienen el efecto de proteger las biomoléculas lábiles sometidas a estrés hídrico o térmico. Avances recientes en el área de los mecanismos de preservación de organismos vivos bajo condiciones extremas promovieron avances en el estudio de las propiedades de los azúcares en relación con su efecto estabilizante. Además de la pérdida de actividad de ciertos componentes por su propia degradación, las reacciones de Maillard y la oxidación de lípidos son factores de deterioro en el almacenamiento de los productos deshidratados o congelados, y de ciertos organismos vivos como semillas o levaduras. Las propiedades estabilizantes de azúcares amorfos pueden analizarse desde el punto de vista de sus propiedades macroscópicas o de su acción a nivel molecular. En el primer aspecto, su capacidad para generar medios vítreos provocan inhibición de las reacciones químicas que conducen a la pérdida de funcionalidad o efectividad de componentes específicos (1). La protección a proteínas y a membranas, por otro lado, ocurre por interacciones a nivel molecular, debido a su capacidad de formar uniones por puentes de hidrógeno. El objetivo de este trabajo es analizar los mecanismos por los cuales los azúcares ejercen su efecto protector de biomoléculas lábiles y la evolución de los criterios que establecen la relación entre vitrificación y estabilidad que tuvo lugar durante la última década.

Metodología. Como modelo de biomateriales lábiles se analizaron sistemas en los que enzimas o levaduras se congelaron y/o deshidrataron en medios que contenían azúcares (trehalosa, sacarosa, lactosa). Se analizó la estabilidad de dichos biomateriales en las regiones correspondientes a los estados vítreo y sobre-enfriado. Las transiciones térmicas se determinaron por calorimetría diferencial de barrido. Se emplearon además otras técnicas, como difracción por rayos X o microscopía con luz polarizada para caracterizar dichos medios. Se analizó además el efecto de la compactación de las muestras y la relación entre la reacción de Maillard y la pérdida de actividad enzimática.

Resultados y discusión. Las reacciones de que conducen al

deterioro y pérdida de actividad de los biomateriales analizados (como son condensación de grupos amino con grupos carbonilo, actividad enzimática, reacciones hidrolíticas, daños a liposomas o membranas, liberación y oxidación de compuestos encapsulados) se aceleraron como consecuencia de la cristalización de matrices de azúcares. Por lo tanto se investigaron distintas estrategias para inhibir la cristalización de los azúcares protectores. Entre ellas, la incorporación de polímeros, la combinación con otros azúcares y el agregado de sales, se encontró que eran métodos efectivos para prolongar el efecto estabilizante de los azúcares aún en medios sobre-enfriados (2). La compactación de muestras de una enzima encapsulada en matrices que contenían lactosa aceleró las reacciones de deterioro (Maillard, pérdida de actividad enzimática) (3).

Conclusiones. La condición de vitrificación retrasa las reacciones de deterioro, aunque no las inhibe totalmente. En cuanto a la relación entre vitrificación y estabilidad otorgada por los azúcares a estructuras lábiles, a comienzos de la década del 90, se consideró que la formación de vidrios era la principal propiedad de los solutos protectores. A mediados de la misma década, se estableció que la formación de vidrios es necesaria pero no suficiente, ya que debe haber en el medio compuestos polihidroxílicos adecuados. Se considera actualmente que se puede estabilizar biomoléculas lábiles en medios sobre-enfriados, evitando la cristalización de los azúcares. El entendimiento de los mecanismos involucrados en la crio y dehidroprotección de biomoléculas permitirá introducir mejoras en la formulación y el control de fármacos, vacunas, pruebas de diagnóstico y prolongar la vida útil de células o tejidos en el campo de la investigación en biotecnología.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado con fuentes de Universidad de Buenos Aires, CONICET, ANPCYT, IFS., y es parte del Proyecto CYTED XI.13.

Bibliografía.

- (1) Hancock, B. and Zografi, G. 1997. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *J. Pharm. Sci.* 86: 1-12
- (2) Mazzobre, M.F. y Buera, M.P., 1999. Combined effects of trehalose and cations on the thermal resistance of β -galactosidase in freeze-dried systems. *Biochim. Biophys. Acta*, 1473: 337-344.
- Burin, L.; Jouppila, K., Roos, Y.; Kansikas, J. y Buera, M.P. 2000.
- (3) Color formation in dehydrated modified whey powder systems as affected by compression and Tg. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5263-5268