

Optimización de la inmovilización por adsorción de dos tipos de lipasa usando nueve diferentes resinas.

Andrés Méndez-Zamora¹, Leticia Casas-Godoy², Georgina Sandoval¹

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco CIATEJ, 44270 Guadalajara, Jal. México, ²Cátedras CONACYT- Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, lcasas@ciatej.mx, gsandoval@ciatej.mx.

Palabras clave: Lipasa, Inmovilización, Adsorción.

Introducción. La inmovilización enzimática es un proceso en el cual la enzima es confinada en un espacio definido, con el objetivo de producir formas insolubles que retienen su actividad catalítica y pueden ser reutilizadas (1). En el presente trabajo, se pretende optimizar la inmovilización por adsorción de dos diferentes muestras de lipasa (una muestra comercial y una muestra producida en CIATEJ); evaluando nueve diferentes resinas activadas y no activadas.

Metodología. El método de adsorción para la inmovilización enzimática se realiza mediante agitación y temperatura controlada (2), para permitir la formación de interacciones débiles entre la enzima y la superficie del soporte (3). Se evalúa la inmovilización de 2 muestras de lipasas en nueve diferentes soportes (3 resinas poliméricas [P1, P2, P3], 4 resinas poliméricas y macro porosas [M1, M2, M3], y 2 resinas con grupo funcional amino [A1, A2]), activados y no activados. El análisis estadístico se realiza en el software Statgraphics.

Resultados. Se realiza un análisis de medias de los grupos mediante un análisis de varianza de varios factores para la inmovilización; comprobando los supuestos de independencia, varianza constante y distribución normal. En la **Fig. 1** se observan los resultados de las medias de inmovilización de las nueve diferentes resinas para las dos muestras de lipasa.

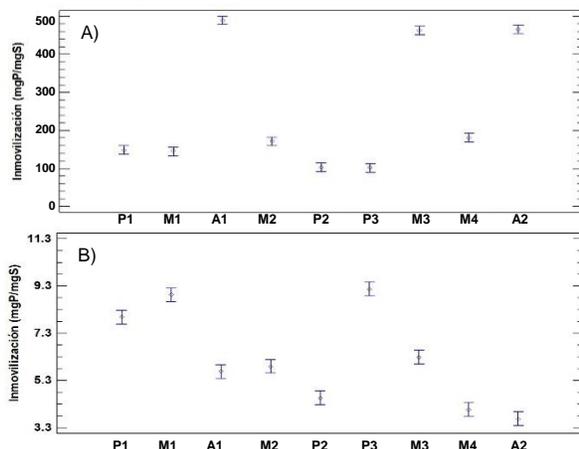


Fig. 1. Análisis de medias de la inmovilización de las diferentes resinas. A) Lipasa comercial. B) Lipasa producida en CIATEJ.

Para el caso de la lipasa comercial se observan mejores rendimientos de inmovilización con las resinas poliméricas (P1, P2 y P3), las resinas macro porosas (M1 y M4) y la resina con grupo funcional amino (A1) cuando se encuentran no activadas, lo que se traduce en una etapa menos del proceso de inmovilización enzimática. Por otra parte, para la inmovilización de la lipasa CIATEJ se tienen mejores resultados de inmovilización para las resinas M4, A2 y P2 no activadas, mientras que con las resinas P1, A2, P3 y M1 se tienen mejores rendimientos de inmovilización cuando se encuentran activadas.

Cabe mencionar que los resultados de inmovilización entre ambas muestras de lipasa difieren significativamente, siendo la mayor retención de lipasa comercial de 508.86 mg proteína/mg soporte con la resina con grupo amino (A2) no activada y para la lipasa producida de 10.08 mg proteína/mg soporte con la resina polimérica (P3) activada. La diferencia entre los ordenes de magnitud puede ser atribuida a diferentes componentes de la muestra producida, atribuyendo el menor rendimiento a la concentración de sales en el medio de la lipasa producida.

Conclusiones. La media de inmovilización de la muestra comercial fue de aproximadamente 50 veces más que la lipasa producida por fermentación sumergida. Siendo la resina con grupo amino A1 (No Activada), la resina macro porosa M3 y la resina amina A2 (No Activada) las mejores para la inmovilización de la lipasa comercial. Por otra parte, las resinas poliméricas P1 y P3 (Activadas), y la resina macro porosa M1 (Activada) son las mejores para inmovilizar la lipasa producida por fermentación sumergida.

Agradecimientos. Al Clúster Biodiésel Avanzado, Proyecto FSE-250014.

Bibliografía.

- Sandoval, G. (2018) Lipases and Phospholipases - Methods and Protocols. Second. Edited *Springer Protocols*. doi: 10.1007/978-1-61779-600-5.
- Sheldon RA. (2007) Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*;349(8-9):1289-307.
- Villeneuve P, et al. (2000). Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*;9(4):113-48.

