



Asociación de Biología de Tucumán

XXVIII JORNADAS CIENTÍFICAS

**Tafí del Valle - Tucumán - Argentina
26, 27 y 28 de Octubre de 2011**



P-163

INMOVILIZACIÓN DE FRUCTOSILTRANSFERASA EN POLISACÁRIDOS POR ENLACE COVALENTE

Valdeón, DH¹; Daz, M²; Perotti, NI¹

¹PROIMI, Avenida Belgrano y Pasaje Caseros, Tucumán, ²INIQUI, Avenida Bolivia 5150, Salta.
danielvaldeon@gmail.com

La inmovilización de enzimas es una herramienta que permite ventajas fundamentales en biotecnología como la reutilización del catalizador, el aumento de su estabilidad y el uso en procesos continuos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el proceso de inmovilización de la glicosiltransferasa FTasa (EC2.4.1.9), obtenida de *Aureobasidium sp.* ATCC 20524, que cataliza la síntesis de fructooligosacáridos (FOS), compuestos de relevancia en la tecnología de alimentos debido a su demostrada actividad prebiótica. La enzima fue obtenida en un fermentador New Brunswick Discovery Serie 100 en un volumen de 1 L y parcialmente purificada por precipitación con etanol y ultrafiltración. Los soportes utilizados fueron dextranos de diferentes granulometría y agarosa entrecruzada con una matriz de cuarzo. La FTasa fue inmovilizada por unión covalente entre grupos amino provenientes de residuos de aminoácidos de la enzima y grupos aldehído generados en los polisacáridos, que constituyen la base de los soportes utilizados. Los grupos aldehídos se generaron usando la reacción Malaprade variando las concentraciones de NaIO₄ a 30 °C. Para la inmovilización se utilizaron soluciones de enzima en un rango de pH de 5.5 a 10. La actividad de la enzima inmovilizada fue ensayada en frascos agitados conteniendo una solución de sacarosa al 30 % a pH 5,5 incubando 30 minutos a 50 °C y midiendo glucosa (método de la glucosa oxidasa, Wiener), y azúcares reductores (método de DNS). Las proteínas se determinaron por el método de Lowry. La cantidad de enzima retenida en los soportes fue dependiente del pH. Con los dextranos se obtuvieron rendimientos aceptables hasta un valor de pH de 8 y a valores superiores se observó deterioro de los soportes. En agarosa el aumento de pH fue acompañado de un aumento en la cantidad de proteínas ligadas covalentemente. Este resultado puede explicarse debido a que a medida que aumenta el pH, aumenta la proporción de los residuos amino sin carga neta de la proteína, lo cual permite la reacción de base de Schiff entre los grupos aldehído del soporte con los residuos amino. Este sistema presentó alta estabilidad a lo largo de 50 ciclos de operación en lote conservando más del 85% de la actividad enzimática.

P-164

PRODUCCIÓN DE UNA ACTIVIDAD LIPASA EXTRACELULAR UTILIZANDO MELAZA TRATADA CON BIOMASA MICROBIANA

Barrera, S; Martínez, A; Baigorí, M; Pera, LM

PROIMI-CONICET. Av. Belgrano y Pasaje Caseros. 4000. Tucumán. Argentina. lymb32@gmail.com.ar

Introducción: Las lipasas (EC 3.1.1.3) son enzimas pertenecientes a la clase de las hidrolasas que, dependiendo de la termodinámica de la reacción, catalizan reacciones de hidrólisis (en medios acuosos) o de síntesis (en medios con baja actividad de agua). Nuestra línea de trabajo se enfoca a su uso para la síntesis de biodiesel, utilizando para su producción melaza de caña de azúcar. Esta es abundante en el NOA, y presenta el inconveniente de contener melanoidinas, pigmentos oscuros formados como uno de los productos finales de la reacción de Maillard, los que con frecuencia son tóxicos para los microorganismos.

Objetivo: Producir una actividad lipasa extracelular por fermentación sumergida utilizando melaza tratada con biomasa microbiana como única fuente de carbono. **Materiales y métodos:** El microorganismo productor de lipasa fue un aislamiento Gram positivo, espora formador, designado E12 e identificado como *Brevibacillus agri* de acuerdo al análisis comparativo de la secuencia del gen 16S rDNA (GenBank, acceso N° EF635412). La producción de lipasa se realizó en cultivo sumergido a 37°C y 150 rpm de agitación orbital, en medio salino con melaza como única fuente de carbono. La misma fue previamente decolorada por diferentes tratamientos con biosorbentes de origen microbiano y a pH 3, 7 y 9. La producción enzimática se evaluó determinando actividad hidrolítica y actividad de transesterificación. **Resultados:** La máxima actividad hidrolítica (29,91 ± 2,13 U/ml), se obtuvo con melaza pretratada a pH 9 y decolorada con *S. cerevisiae* (3% p/v), desarrollado en cultivo en superficie y mantenido a -20°C. La mayor actividad de transesterificación (0,64 ± 0,23 U/ml), se obtuvo con melaza pretratada a pH 9 y decolorada con *A. niger* (3,5% p/v), desarrollado en cultivo en superficie y mantenido a -20°C. Se observó que el ajuste del pH a 7 de la melaza decolorada resultó ineficiente en términos de las actividades de hidrólisis y de transesterificación evaluadas. **Conclusiones:** Nuestro estudio permite concluir que el uso de melaza decolorada como fuente de carbono, un subproducto abundante de la industria azucarera en nuestro país, favoreció la producción de una actividad lipasa extracelular por *B. agri* E12.

Agradecimientos: CIUNT 26/D409, PIP 297.