

Derivados inmovilizados de lipasa pancreática sobre matrices de pulpa de coco (*Acrocomia aculeata*) para la obtención de esteres metílicos

Ayala, Juan¹, López, Marcelo¹, Rodríguez, Sergio², González, Yenny¹, Arguello, Jacqueline³, Yubero, Fatima^{1*}

¹Departamento de Físicoquímica/Universidad Nacional de Asunción/ Facultad de Ciencias Químicas/ Campus Universitario San Lorenzo. San Lorenzo. Py

²Laboratorio de Biocombustibles y Lubricantes/Instituto Nacional de Tecnología y Normalización (INTN). Avda. Artigas 3973. Asunción. Paraguay

³Instituto de Química/ Universidad Federal de Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil

*fyubero@qui.una.py

Introducción

Las industrias utilizan los frutos del cocotero de la especie *Acrocomia aculeata* de masivo desarrollo nativo en Paraguay con el propósito de obtener principalmente el aceite de almendra utilizado en cosmética, aunque se halla en fase de exploración sus potencialidades para la obtención del aceite de pulpa con fines de producción de biocombustibles. Sin embargo, los desechos de pulpa derivados de estos procesos, si bien son utilizados como alimento para ganado vacuno y porcino, no son bien remunerados al productor primario. No obstante, nuevos productos pueden obtenerse con el fin de reciclar el deshecho de la pulpa y utilizarlos como materiales en la producción sustentable de biocombustibles.

Objetivo

Desarrollar derivados inmovilizados de lipasa pancreática porcina sobre matrices de pulpa de coco para la obtención de esteres de metilo (biodiesel) y que sean aplicables en la reacción de transesterificación enzimática de esteres de ácidos grasos en presencia de metanol facilitada por la adición de cosolvente.

Experimental



1. Lipasa Pancreática (40 mg/g de fibra decolorada de pulpa)

Activación de fibra de pulpa + glutaraldehído 1,5% (v/v) a 25°C x 24 horas en rotor de tubos a 8 RPM

Técnicas de caracterización aplicadas:
Infra Rojo – MEB – EDX
Evaluación del porcentaje de retención por proteínas (método colorimétrico) y por actividad (método del DTNB)

2. Lipasa Pancreática (40 mg/g de fibra de pulpa con glutaraldehído)

Resultados



Tabla 1: Números de onda de espectros IR de las fibras de coco y de los derivados de LPP inmovilizados

Números de onda IR (cm ⁻¹)	3500	2920	1730	1030 y 1060
	Alargamientos de N-H no asociados	Estiramiento C-H	Estiramientos C=O, C=C(=O)-O	Tensiones C-O-C C=N
Fibra nativa		X		X
Fibra decolorada	X	X		X
LPP sobre fibra decolorada	X	X	X	X
LPP sobre fibra decolorada activada con glutaraldehído	X	X		X

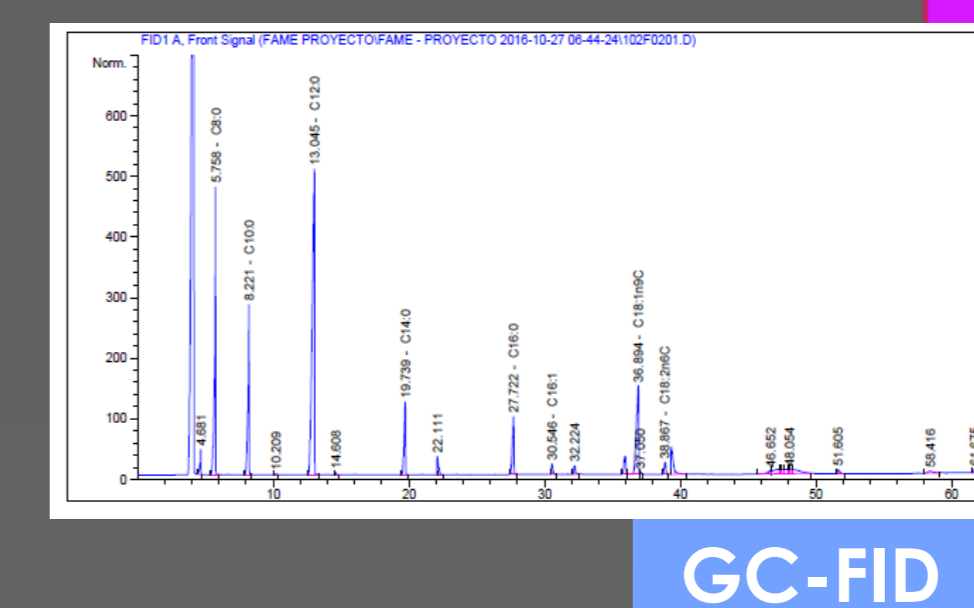
Tabla 2: Análisis químico elemental por espectroscopia (EDX) de la superficie de Lipasa pancreática porcina (LPP), fibra de pulpa de coco y derivado inmovilizado

%	C	N	O	Na	K	Mg	Cl	P
LPP	56.12	20.50	21.85	0.45	1.09	-	-	-
Fibra nativa	81.96	2.79	14.43	-	0.58	0.09	0.15	-
Fibra decolorada	61.01	3.58	32.85	-	2.16	-	0.39	-
LPP sobre fibra decolorada	54.64	11.90	26.44	-	4.03	-	-	3.00

Tabla 3: Comparación del % de esteres de ácidos grasos de cadenas cortas y largas formados al aplicar los derivados inmovilizados de LPP sobre los sustratos de aceite de coco y girasol por 14 horas de reacción, a 38,5°C y 189 RPM

Inmovilizados de LPP	Aceites	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0
LPP sobre fibra decolorada	Coco	15	10	36	6	5	2
	Girasol	-	-	-	-	9	5
LPP sobre fibra decolorada con glutaraldehído	Coco	13	9	30	5	4	2
	Girasol	-	-	-	-	9	5

Referencias: [1] Cardozo Román, C.J., KA'AGUY Revista Forestal del Paraguay: 12 (1) 1996; p.41-46; [2] Oberlander, D.; Bohm, E. *Acrocomia aculeata*: su potencial como cultivo para múltiples propósitos. Ed. 2009. Agroenergía S.R.L. Paraguay; [3] Hiane P, Filho M, Ramos M, Macedo M, Bacaliva, *Acrocomia aculeata* (Jaca). Load, Pulp and Kernel Oils: Characterization and Fatty Acid Composition. Braz J Food Technol, 2005; v.8 n.3: p.254-9; [4] Valdovinos V. Evaluación de las propiedades físicoquímicas y de procesamiento de la pulpa de coco (*Acrocomia aculeata*) con miras a su aplicación en la industria de los alimentos [Licenciatura]. Facultad de Ciencias Químicas; 2016; [5] Yubero, F.; Ayala, J.; Ayala, J.; López, M.; Valdovinos, V.; Bernal, C.; González, Y. Polvo insoluble de la pulpa de coco (*Acrocomia aculeata*) como biocatalizador. Diseño, preparación y caracterización de catalizadores en el Libro de resúmenes del XXV Congreso Iberoamericano de Catálisis. Montevideo (2016) Pg. 49 ISBN: 978-9974-8434-3-1; [6] Andersen R, Brask J. Synthesis and evaluation of fluorogenic triglycerides as lipase assay substrates. Chemistry and Physics of Lipids. 2016; 19872-79; [7] Bassi J, Todero L, Lage F, Khedy G, Ducas J, Mendes A, et al. Interfacial activation of lipases on hydrophobic support and application in the synthesis of a lubricant ester. International Journal of Biological Macromolecules. 2016; 92900-909; [8] Mahmood I, Ahmad I, Chen G, Huizhou L. A surfactant coated lipase immobilized in magnetic nanoparticles for multicyle ethyl isovalerate enzymatic production. Biochemical Engineering Journal. 2013; 7372-79; [9] Royon D, Doz M, Ellenrieder G, Locatelli S. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using t-butanol as a solvent. Bioresource Technology. 2007; 98648-653; [10] Chang, R. Físicoquímica. 3ra edición. Mc Graw Hill. 2008, Mexico; [11] Watson M, Scott M. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. Clin Chem 1995; 41: 343-60; [12] Ciconini G. Caracterização de frutos e óleo de Polpa de Maccúba dos biomas cerrado e pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil [Maestría]. Universidade Católica Dom Bosco; 2012; [13] Chaichit M, Alijanpour S. Glucose chemiluminescence biosensor based on covalent immobilization of enzyme in glutaraldehyde functionalized glass cell and direct coupling of chitosan induced Au/Ag alloy nanoparticles. Journal of Analytical Chemistry. 2016; [2]; [14] Hayat M. Fixation for electron microscopy. Elsevier. 2012; [15] Marty J. Application of response surface methodology to optimization of glutaraldehyde activation of a support for enzyme immobilization. Applied Microbiology & Biotechnology. 1985; 22(2): 88.



*Software Chem Station versión B.03.01-SR1

*Estándar externo:
mezcla de esteres metílicos
AG RM-5 Supelco

APLICACIÓN DE INMOVILIZADOS BIOCATALISIS Royon et al. 2007

Inmovilizado (215 mg) Aceite (coco o girasol) 1,22 g
Metanol (1,2 mL)
ter-butanol (15 mL)
(35°C y a 189 RPM por 14 horas)

Conclusiones

- Con las fibras de pulpa de coco despigmentadas se elaboraron dos tipos de soportes para LPP, uno de ellos activado con glutaraldehído al 1,5% v/v.
- Por EDX acoplada a la observación de la superficie por MEB se comprobó que hubo disminución de la concentración del elemento carbono en la superficie de la muestra después de la decoloración de la fibra y que una vez inmovilizada la LPP aumentó el porcentaje de nitrógeno en superficie.
- La inmovilización de lipasa pancreática porcina fue evaluada por retención de actividad enzimática y por proteína. Los porcentajes de retención por proteína (LPP) fueron 78% y 64% para las inmovilizaciones sobre fibra en ausencia y en presencia de glutaraldehído respectivamente; y de 14% por actividad de enzima en ambos casos.
- Los derivados inmovilizados de enzima fueron aplicados como biocatalizadores en una reacción de transesterificación enzimática utilizando aceites vegetales (coco y girasol) y metanol como sustratos en cosolvente de ter-butanol para la producción de esteres de metilo lográndose mejores esterificaciones con el aceite de coco. Esto último conduce a un ciclo productivo sostenible de esteres de metilo que utiliza la misma fibra de pulpa de coco del genero *Acrocomia aculeata* como soporte de biocatalizadores de bajo costo aplicables a un sistema donde el aceite de coco de la misma especie es un sustrato de la reacción.