

inhibit repolymerization of phenoxy radicals on naked cellulose (6, 13). Cooperation with manganese peroxidase should be based on the fact that CDH can solubilise insoluble Mn (IV) and provide cello-bionic acid as chelating agent for Manganese ions (14). CDH can indeed work in both this ways, but the fact that CDH is produced by fungi that lacks these peroxidases talks however against this suggestion (5). A third attractive hypothesis is that CDH is the first member in an electron transport

chain with the function to capture the easily available reducing energy of cellobiose, which is the major product of cellulose degradation (15). It is however not likely that this could happen without the involvement of a membrane system. In eukaryotic organisms such systems are located in mitochondria. Thus, such an electron transport chain must involve a transmembrane transport. Alternatively, an ATP generating system could exist in the cytoplasmic membrane.

14. Roy BP, *et al.* *J Biol Chem* 1994; 269 (31):19745-19750.

15. Eriksson KE, *et al.* *Enz Microbiol Technol* 1993;15:1002-1008.

INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS DE POSIBLE USO INDUSTRIAL, SELECCIÓN DE SOPORTES A PARTIR DE MATERIAS PRIMAS DE BAJO COSTO

Niury Acosta¹ y Ángeles Heras²

¹*División de Biotecnología Industrial. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Apartado Postal 6162, Ciudad de La Habana. Cuba.*

²*Departamento de Química-Física. Facultad de Farmacia. Instituto Pluridisciplinario. Universidad Complutense. 28040 Madrid, España.*

La quitina es uno de los polisacáridos más abundantes de la naturaleza, componente principal de varias formas de vida incluyendo insectos, crustáceos y paredes de hongos unicelulares. Es dura, relativamente inerte, biodegradable y biocompatible. Esto hace de la quitina y el quitosán (quitina desacetilada) un material con excelentes propiedades para la inmovilización de enzimas de posible uso industrial (1).

La α -quimotripsina, según la bibliografía, tanto en estado libre como inmovilizada, presenta actividad catalítica en medios parcial o totalmente orgánicos (2), lo que incrementa su actividad sintética, que a su vez implica la posibilidad de obtención de péptidos vía enzimática.

La quitina obtenida de diferentes fuentes naturales (langosta, langostinos, cigalas, galeras, cangrejos español y cangrejo americano) de acuerdo al protocolo puesto a punto en este trabajo; se caracterizó por espectroscopía de IR, microscopía electrónica de barrido, grado de desacetilación y medidas de acuofilia. La caracterización físico-química de las muestras obtenidas, diferencia a cada una de ellas, encontrándose posteriormente una relación entre la actividad enzimática de los derivados inmovilizados y sus propiedades.

En todas las quitinas obtenidas se inmovilizó α -quimotripsina vía glutaraldehído, realizándose el

estudio de sus actividades hidrolíticas y sintéticas en medios acuosos y acuoso-orgánicos respectivamente.

Los resultados obtenidos muestran un rendimiento de obtención similar para las diversas fuentes utilizadas (15-23 %), así como el rendimiento de inmovilización (90 %). El derivado de α -quimotripsina inmovilizado en quitina obtenida de langostinos es el más activo, tanto hidrolíticamente, nueve veces más que la enzima libre y sintéticamente, 90 % de rendimiento del péptido Bz-Tyr-Leu-NH₂ (medio orgánico, 70 % butanodiol en tampón carbonato pH 9); interpretándose este hecho como consecuencia de la mayor acuofilia, estructura superficial del soporte y grado de desacetilación de esta muestra concreta. El estudio calorimétrico llevado a cabo con este derivado indica que las interacciones medio parcialmente orgánico-enzima inmovilizada son irreversibles. Además, existe una relación entre sus constantes cinéticas hidrolíticas y las diferentes estructuras, siendo el derivado inmovilizado en quitina de langostinos el mejor respecto a su mecanismo cinético.

Se puede concluir por tanto que una aplicación de las quitinas es su utilización como soporte en la inmovilización de α -quimotripsina, siendo de gran relevancia la síntesis peptídica en medios parcialmente orgánicos.

1. Muzzarelli RAA. *The Polysaccharides*, Vol. 3, Charter 6, Aspinall, GO. Ed. Academic Orlando, 1985.

2. Heras A, Martín MT, Acosta N, Debaillon-Vesque F. *Biocatalysis in Non-Conventional Media*. *Progress in Biotechnology*, Ed Tramper J 1992;8:339-346.