

# INMOVILIZACIÓN DE LIPASAS: ESTUDIO DEL EQUILIBRIO DE ADSORCIÓN SOBRE RESINAS DE INTERCAMBIO

Raúl E. Mora, Ana María Cortés, Néstor A. Algecira, Julio César Vargas\*

Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia  
Ciudad Universitaria, Carrera 30 – Calle 45, Edificio 453, Bogotá – Colombia

\* Fax: +57 (1) 3 16 53 21 e-mail: jcvargass@unal.edu.co

## Resumen

El interés y las regulaciones ambientales se han incrementado en el mundo público, político y económico en las dos últimas décadas dado que la calidad de vida está fuertemente conectada a un ambiente limpio. La catálisis y los catalizadores muestran un gran potencial en el alcance de las metas ambientales y económicas. La necesidad de desarrollar nuevos catalizadores, más eficientes y selectivos, está relacionada en alto grado con la compatibilidad ambiental.

Las enzimas han mostrado ser excelentes catalizadores desde el punto de vista de selectividad, conversión e impacto ambiental. Sin embargo, presentan dificultades de separación del producto final y por ende un alto porcentaje de pérdida; además, su alto costo hace que la implementación de un proceso industrial sea económicamente inviable. Por esta razón, el desarrollo de un proceso económicamente atractivo que permita la heterogenización de la enzima, inmovilizando un alto porcentaje y preservando sus propiedades catalíticas representa gran interés en el ámbito académico e industrial.

La producción de ésteres de ácidos grasos tiene gran interés dadas sus propiedades emulsificantes. Trabajos previos han mostrado que la lipasa *Candida antarctica* y que algunas resinas de intercambio iónico presentan actividad catalítica en la reacción de esterificación.

Nuestra aproximación consiste en la inmovilización de la lipasa *Candida antarctica* sobre dos resinas de intercambio iónico: Lewatit 2431 (resina con grupos funcionales sulfónicos) y Lewatit S 3428 (con grupos funcionales amínicos), empleando los métodos de adsorción física y unión covalente, respectivamente.

Cada soporte (1,0 g) fue puesto en contacto con una solución (80 ml) de diferente carga enzimática (0,1 – 2,0 g) a temperatura ambiente, durante 6 horas en agitación continua.

Para cuantificar el porcentaje de enzima inmovilizada se utilizó una variación del método de Lowry (determinación de proteína residual); para lo cual se determinaron la longitud de onda y la proporción de dilución adecuadas para la reproducibilidad del método.

Las curvas de inmovilización se ajustaron a los modelos de equilibrio de adsorción de Langmuir, Freundlich y Redlich-Peterson, encontrándose que la inmovilización obedece al modelo de Langmuir para los dos soportes, sugiriendo una inmovilización en monocapa.

La inmovilización sobre la resina Lewatit 2431 presenta los mejores resultados con un porcentaje máximo de inmovilización del 90% frente al 40% de la resina Lewatit S 3428.

El método de inmovilización desarrollado es de fácil implementación, económicamente atractivo y con alto grado de retención de la enzima. Las variaciones realizadas al Método de Lowry son una herramienta útil para la implementación del proceso.

**Palabras Clave:** inmovilización, modelos de adsorción, equilibrio de adsorción

Con formato: Inicio de sección: Nueva página

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Con formato: Superíndice

Eliminado: <sp>¶  
=Salto de sección (Página siguiente)=  
¶

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas, No conservar con el siguiente

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Eliminado: ¶  
¶  
=Salto de sección (Página siguiente)=

Eliminado: medio

Eliminado: y d

Eliminado: que dado

Eliminado: ant

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Eliminado: *Cándida*

Eliminado: *Cándida*

Eliminado: 5

Eliminado: \_\_\_\_\_

Eliminado: ¶

Con formato: Centrado

Con formato: Justificado, Sin control de líneas viudas ni huérfanas

## Introducción

La búsqueda de catalizadores ambientalmente amigables y selectivos hacia una reacción deseada, ha incrementado notablemente el estudio de las enzimas como catalizadores [1]. Su selectividad hacia reacciones y productos específicos ha interesado tanto a la comunidad científica como a la industrial, pues el desarrollo de este tipo de catalizadores podría significar incrementos en la productividad, y por ende mejoras en la economía de una industria [2].

Los sectores farmacéutico y alimenticio, además de las ventajas ya mencionadas, han encontrado que las enzimas son catalizadores que mejoran la pureza de los productos y permiten su consumo humano (grado alimenticio) [3], debido a que en su gran mayoría éstas son generalmente reconocidas como seguras (*generally recognized as safe*) [4,5].

Las lipasas han mostrado buenos resultados hacia la obtención de monoglicéridos [6]. Aunque la selectividad hacia  $\alpha$ -monoglicéridos es hasta ahora equiparable con la de otros catalizadores, la disminución en las condiciones de operación (70°C de temperatura de reacción contra 180°C de los procesos comerciales) y las mejores propiedades fisicoquímicas del producto final, han hecho que sea de interés investigativo.

Sin embargo, el costo actual de las enzimas hace inviable económicamente un proceso de catálisis homogénea, debido a que el catalizador no es fácilmente recuperable. Por tal razón, la heterogenización del proceso es de suma importancia. La inmovilización de enzimas sobre distintos soportes es un proceso que aún no se encuentra estandarizado [7]. Los estudios realizados hasta ahora son bastante empíricos, y no existe actualmente una metodología para seleccionar el soporte adecuado para el sistema enzima-sustrato, de tal forma que el nuevo catalizador conserve su actividad y mejore su estabilidad operacional y térmica.

Aunque la literatura es extensa en cuanto a estudios de inmovilización de lipasas, a la luz de nuestro conocimiento son escasos los que se han centrado en la producción vía enzimática de monoglicéridos. Básicamente, se han estudiado los monooleatos y los monolauratos [8].

Este trabajo hace parte de un proyecto que busca desarrollar el potencial como catalizador de la lipasa B de *Candida antarctica*. CALB y estudió la

inmovilización de la CALB sobre dos resinas de intercambio iónico de diferente tipo funcional (sulfónica y amínica terciaria), determinando cuantitativamente y de manera sistemática la forma como se inmoviliza la enzima.

El conocimiento del sistema formado por la enzima y el soporte permite predecir su comportamiento en la aplicación industrial como catalizador, y por lo tanto permite el diseño e ingeniería de proceso. Es importante evaluar propiedades como la cantidad de enzima inmovilizada, la forma como se adsorbe, la actividad del catalizador, su selectividad y su estabilidad operacional [9,10,11]. Esto es necesario tanto para la determinación de las condiciones de inmovilización como para el diseño del proceso, pues de esto dependerán las estrategias para una producción en proceso continuo.

La inmovilización altera significativamente el comportamiento de la enzima produciendo cambios en su estabilidad. Igualmente, la enzima inmovilizada es un sistema heterogéneo en el cual todos los componentes que intervienen en el proceso catalítico se encuentran en interfase: en el medio de reacción y en la fase constituida por el soporte con la enzima. Como consecuencia, la actividad enzimática se ve afectada por efectos de tipo difusional, estérico y del microentorno.

Existen varios métodos de inmovilización de enzimas, ésta puede llevarse a cabo mediante retención física, por atrapamiento y química [12]. El proceso de inmovilización es aún nuevo y carece de procedimientos sistemáticos para llevarse a cabo. La selección del soporte debe estar precedida por estudios de caracterización del sistema enzima - soporte [13,14,15]. El modelamiento del equilibrio de adsorción de lipasa permite un acercamiento más confiable que aquellos métodos al azar que sólo proveen información del sistema estudiado.

Aunque se han desarrollado y aplicado muchas técnicas de inmovilización a numerosas enzimas, se reconoce que no existe un método universal válido para todas las enzimas en todos los casos. No obstante, gracias a toda la información disponible en la actualidad, se pueden hacer generalizaciones sobre cada método de inmovilización (Tabla 1) y así, seleccionar el método más adecuado para cada aplicación específica. La elección ha de tener en cuenta las condiciones de la reacción biocatalizada, el tipo de reactor que se ha de utilizar, el tipo de sustrato que va a ser procesado, entre otros factores.

Eliminado: <sp>¶

¶  
¶  
¶  
¶  
¶

Eliminado: Justificación del trabajo → MG ?¶

La inmovilización de enzimas permite una mejora significativa de su estabilidad, lo que hace posible su empleo en la producción industrial de productos químicos. Alimentos (emulsificantes)¶

Eliminado: utilizados ...para la que se destine el catalizador obtenido...insinúa la nue... [1]

Eliminado: comercial...uede s... aumentos ... [2]

Eliminado: . Ingeniería del proceso¶

Eliminado: adsorbida...en que ..., t..., ... [3]

Eliminado: ,...en ..., ..., las enzimas ... [4]

Eliminado: . Para que?

Con formato: Fuente: Sin cursiva

Eliminado: G

Eliminado: A menudo... l... En primer lugar, se produ... [5]

Eliminado: , sin embargo

Eliminado:  ...2...mejor color ... [6]

Con formato: Fuente: Symbol

Con formato ... [7]

Eliminado: La ...o...¶

¶

Eliminado: prema...escoger , mantenga ... [9]

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Eliminado:

Eliminado: pocos ...grupos de investigación ...enfocad... [10]

Eliminado: ¶ un proceso catalizado p... [11]

Eliminado: Método¶ Propiedad ... [12]

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Con formato

Con formato ... [13]

Tabla 1. Comparación de los métodos de inmovilización

Propiedad	Inclusión en membranas	Atrapamiento	Reticulado	Adsorción química	Unión
Preparación	Intermedia	Difícil	Intermedia	Sencilla	Difícil
Fuerza de unión	Débil	Media	Débil – media	Media	Fuerte
Actividad enzimática	Media – alta	Baja	Baja	Media	Alta
Regeneración del soporte	Posible	Imposible	Imposible	Posible	Difícil
Costo del proceso	Medio – alto	Medio	Medio	Bajo	Alto
Estabilidad	Media	Alta	Alta	Baja	Alta
Resistencia microbiana	Sí	Sí	Sí	No	No

En general, los métodos de inmovilización catalogados como difíciles y de mayor costo proporcionan biocatalizadores más estables y duraderos; en cambio aquellos métodos más simples como el atrapamiento o la adsorción, donde la unión de la enzima con el soporte es débil, originan derivados inmovilizados que presentan pérdidas de actividad y que se deben reponer continuamente.

Con base en lo expuesto anteriormente, la experimentación se realizó teniendo en cuenta la selección de los soportes y las distintas posibilidades de inmovilización. La diversidad de la metodología empleada y de la forma de presentación en los diferentes estudios hace difícil la comparación de los resultados. El diseño de experimentos pretendió hacer comparables todos los soportes y métodos, con el fin de poder escoger bajo los criterios ya mencionados los mejores. Con base en los resultados obtenidos por diferentes autores [4,7,11,12,13,16] se seleccionó como agentes inmovilizantes dos resinas de intercambio que, por su estructura y sus grupos funcionales, permiten la inmovilización por medio de impregnación (Lewatit 2431) y de unión covalente (Lewatit S 3428).

Dado que los soportes se seleccionaron con el criterio de que fuera factible la inmovilización, vía adsorción o unión covalente, es posible referirse en términos de curvas de equilibrio de adsorción de la lipasa. Además, para el caso de los métodos de atrapamiento, inclusión y reticulado, el tratamiento es completamente análogo, pues lo que se busca es encontrar la carga de enzima óptima de tal forma que se logre la saturación del soporte aprovechado la enzima disponible.

El equilibrio de adsorción está representado por una isoterma que incluye la carga de enzima (cantidad adsorbida en  $\text{mg.g}^{-1}$ ) y la concentración de lipasa residual en solución ( $\text{mg.dm}^{-3}$ ) después de

la inmovilización. El análisis del equilibrio evalúa la afinidad (o capacidad) del soporte hacia la lipasa.

Adicionalmente, la forma de la isoterma provee una descripción cualitativa de la naturaleza de la superficie adsorbente (homogénea o heterogénea). Existen varias isotermas de adsorción de acuerdo a algunas suposiciones, la naturaleza de la superficie adsorbente y la forma de la isoterma.

En el este trabajo se estudio la inmovilización de la lipasa B obtenida de la levadura *Candida antarctica* sobre dos resinas de intercambio iónico comerciales: Lewatit 2431 y Lewatit 3428.

#### Metodología

Lipozyme CAL-B [Novozymes] es una lipasa termoestable de la *Candida antarctica* producida por fermentación sumergida del microorganismo *Aspergillus oryzae* genéticamente modificado. Posee una actividad de 15KLU/g definida por Novozymes a un pH entre 5 y 9, a un óptimo entre 7 y 8, y a una temperatura entre 60 y 75°C. Su presentación es líquida de color café.

La resina de intercambio iónico, Lewatit 2431 (Bayer) es una resina macroporosa de base polimérica altamente ácida. Se encuentra en forma de esferas beige opacas y tiene grupos sulfónicos ácidos en su superficie. A comparación de las resinas tipo gel, la estructura macroporosa de este catalizador permite que las moléculas grandes tengan acceso a los sitios activos. Se utiliza comúnmente en alquilación de fenol y olefinas, reacciones de esterificación y eterificación, condensación y alquilación de moléculas grandes.

La resina Lewatit S 3428 (Bayer) es una resina de intercambio aniónica débilmente básica de color beige opaco, que contiene únicamente grupos amino terciarios con base de poliestireno. Efectiva en remoción de ácidos y decoloración de productos orgánicos como gelatina, azúcar, glicerina y

- Con formato ... [14]
- Con formato ... [15]
- Con formato ... [16]
- Tabla con formato ... [17]
- Con formato ... [18]
- Con formato ... [19]
- Con formato ... [20]
- Con formato ... [21]
- Con formato ... [22]
- Con formato ... [23]
- Con formato ... [24]
- Con formato ... [25]
- Con formato ... [26]
- Con formato ... [27]
- Con formato ... [28]
- Con formato ... [29]
- Con formato ... [30]
- Con formato ... [31]
- Con formato ... [32]
- Con formato ... [33]
- Con formato ... [34]
- Con formato ... [35]
- Con formato ... [36]
- Con formato ... [37]
- Con formato ... [38]
- Con formato ... [39]
- Eliminado: ... [40]
- Con formato ... [41]
- Con formato ... [42]
- Eliminado: cabo. La se [43]
- Eliminado: ¶
- Eliminado: ¶
- Eliminado: ¶ ... [44]
- Eliminado: 3
- Eliminado: 1. Compar [45]
- Con formato ... [46]
- Eliminado: ¶ ... [47]
- Eliminado: ,
- Eliminado: (ver
- Eliminado: como se m [48]
- Eliminado: Tabla 1)
- Eliminado: 3
- Eliminado: 1
- Eliminado:
- Eliminado: ,
- Eliminado: y así, selec [49]
- Eliminado: ¶
- Eliminado: proporcion [50]
- Con formato ... [51]
- Eliminado: el diseño d [52]
- Eliminado: Debido
- Eliminado: Ya que a
- ... [53]
- ... [54]
- Con formato ... [55]
- ... [56]

concentrados de frutas.

La solución buffer utilizada en la inmovilización es una solución de fosfato de potasio / fosfato de sodio de pH 7,00, densidad  $1,006 \text{ g mL}^{-1}$  y punto de ebullición  $100^\circ\text{C}$ .

Para la determinación de proteína se utilizó un espectrofotómetro de laboratorio HACH ODYSSEY modelo DR/2500 con sistema óptico concéntrico.

Para la inmovilización se prepararon 10 soluciones de diferentes concentraciones de enzima. Estas soluciones se pusieron en contacto con el soporte, permitiendo que este se saturara de enzima.

A cada una de las soluciones se le determinó el porcentaje de inmovilización y se ajustó a una isoterma de equilibrio. Para cada soporte se construyeron tres isotermas y a cada una de estas se le hizo el ajuste, buscando determinar el tipo de isoterma (Langmuir, Redlich-Peterson, Freundlich) bajo la cual se comporta la adsorción de la enzima sobre el soporte.

Para los ensayos de determinación de carga óptima de enzima se utilizaron volúmenes de 40 mL de buffer y 0,5 g de resina. Los ensayos para los puntos óptimos fueron realizados con 80 mL de buffer y 1 g de resina.

No existe un método general para la determinación satisfactoria de la concentración de proteína. La escogencia del método depende de la naturaleza de la proteína, de los otros componentes de la muestra, de la exactitud y sensibilidad deseadas. El método de Lowry es un método colorimétrico donde la coloración final es el resultado de una reacción de Biuret. Se basa en la reactividad de los nitrógenos peptídicos con los iones de cobre (II) bajo condiciones alcalinas y la subsecuente reducción del ácido fosfomolibdicofosfotungsténico del reactivo Folin-Ciocalteu a azul de heteropolimolibdeno por la oxidación de ácidos aromáticos catalizada por el cobre. Puede decirse que el método mide los residuos de tirosina y triptofano de la proteína. Ofrece la ventaja de poderse aplicar a material seco o a soluciones. No se requiere digestión y la intensidad de la coloración obtenida depende de la proteína, pues el contenido de tirosina y triptofano varía dependiendo de la proteína.

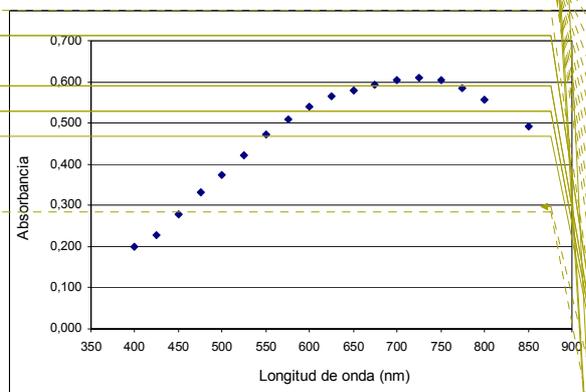
La inmovilización de Lipozyme sobre resinas de intercambio se realizó, siguiendo procedimientos estándar encontrados en la literatura [11,16]. Inicialmente, la resina fue prehinchada durante 2

horas en la solución buffer a temperatura ambiente.

Una vez hinchada, la solución con buffer y resina fue puesta en agitación a 200 rpm y posteriormente se añadió la cantidad de enzima a inmovilizar. La mezcla se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente; posteriormente fue filtrada por una malla 100 y lavada con solución buffer. La solución filtrada fue analizada para determinar la cantidad de proteína residual y la resina se secó a temperatura ambiente durante 12 horas.

### Resultados

Figura 1. Determinación de longitud de onda con mayor absorbancia de CALB para la determinación de proteína.



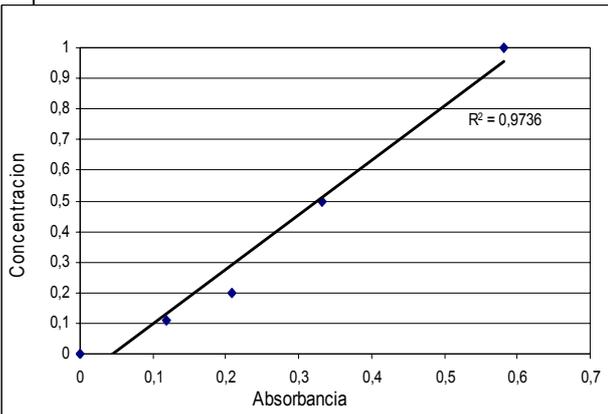
### Determinación de proteína

Antes de llevar a cabo la inmovilización de la enzima en el soporte fue necesario realizar algunos ensayos preliminares con miras a obtener resultados confiables en la determinación de la cantidad de proteína de las soluciones. La medición de la coloración dada por los enlaces peptídicos es diferente para cada tipo de proteína. Primero se encontró la longitud de onda a la cual se da la máxima absorbancia para la enzima estudiada. Para ello se realizó un barrido de la absorbancia en función de la longitud de onda, para una concentración de Lipozyme dada. La máxima absorbancia se presenta en una longitud de onda de 725nm, a la cual se realizaron el resto de las mediciones de cantidad de proteína para Lipozyme (Figura 1).

Posteriormente se estableció si la relación entre la concentración de la enzima y la absorbancia es lineal. Para ello se preparan diferentes diluciones de enzima y se determina la absorbancia.

- Eliminado: Las resina ... [62]
- Eliminado: ¶ ... [63]
- Eliminado: ¶ ... [64]
- Eliminado: g
- Eliminado: \*
- Eliminado: "fusión ..." [65]
- Eliminado: como se m ... [66]
- Eliminado: ¶
- Eliminado: 2.1.3 ... [67]
- Eliminado: an...ponen ... [68]
- Con formato ... [69]
- Eliminado: ¶ ... [70]
- Eliminado: 3.1
- Eliminado: En la Figura 1
- Eliminado: hacia  $\alpha$  - ... [71]
- Eliminado: ¶ ... [72]
- Con formato ... [73]
- Eliminado: Determina ... [74]
- Eliminado: <sp>¶
- Eliminado: ¶ ... [75]
- Eliminado: Como se muestra
- Eliminado: 29
- Eliminado: ?
- Eliminado: , la máxima ... [76]
- Eliminado: a...constru ... [77]
- Con formato ... [78]
- Eliminado: <sp>
- Eliminado: Adicionalm ... [79]
- Eliminado: y
- Eliminado: de la rapid ... [80]
- Eliminado: es el más k ... [81]
- Eliminado: Una de las ... [82]
- Eliminado: ¶ ... [83]
- Con formato ... [84]
- Eliminado: ¶ ... [85]
- Eliminado: Para la ... [86]
- Eliminado: fue ... [87]
- Eliminado: ron
- Eliminado: proteína
- Eliminado: ó...; resulta ... [88]
- Eliminado: .
- Eliminado: Como se r ... [89]
- Eliminado: Se obtuvo ... [90]

Figura 2. Factor de correlación para la linealización de diluciones de CALB.



Finalmente, se establecieron los parámetros para la determinación de la cantidad de proteína. Las mediciones subsiguientes se realizaron a 725nm, diluyendo la solución de proteína para ajustarla al intervalo de comportamiento lineal de la absorbancia.

### Inmovilización

Uno de los parámetros más importantes a la hora de definir si un sistema soporte-enzima es adecuado para efectuar una reacción determinada, es la cantidad de enzima que es posible adsorber sobre el soporte. Siguiendo la metodología para la inmovilización de la lipasa a diferentes cargas de enzima en la solución inicial, es posible determinar el porcentaje de proteína inmovilizada en relación a la cantidad cargada en la solución inicial. Los resultados obtenidos para las resinas Lewatit S 3428 y Lewatit 2431 se muestran en la Figura 3. El equilibrio de adsorción está representado por una isoterma que relaciona la eficiencia de la inmovilización  $Q_e$  (cantidad de enzima inmovilizada por cantidad de enzima en la solución inicial por gramo de soporte) y la carga inicial de enzima.

El comportamiento de la gráfica demuestra la existencia de un equilibrio de adsorción, que se presenta entre 15 y 20  $\text{mL}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  para Lewatit 2431 y entre 10 y 15  $\text{mL}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  para Lewatit S 3428.

A partir de este punto, no se justifica la adición de más cantidad de enzima en la solución inicial, ya que la lipasa en exceso queda en la solución

residual y no logra adherirse al soporte.

Eliminado:

La isoterma de adsorción a la que se ajustan los datos experimentales depende de las características de la superficie del adsorbente. Los modelos más conocidos para la inmovilización de lipasas son las isotermas de:

Langmuir: 
$$Q_e = \frac{K_L C_e}{1 + \alpha_L C_e}$$

Freundlich: 
$$Q_e = K_F C_e^{1/n}$$

Redlich - Peterson: 
$$Q_e = \frac{K_J C_e}{1 + b_J C_e^\beta}$$

Mediante linealización de los modelos de isotermas, se obtuvieron los ajustes de los datos experimentales para las isotermas. En la Figura 4 se muestra los resultados obtenidos para Lewatit 2431, el modelo que se ajusta mejor es el propuesto por Langmuir. Debido a que las lipasas se unen al soporte en varios puntos de contacto, una isoterma de adsorción con alta afinidad al modelo de Langmuir indica que las moléculas de Lipozyme forman monocapa sobre la superficie de la resina. Este ajuste permite suponer que todos los puntos de unión son energéticamente equivalentes. La isoterma también permite presumir una adsorción irreversible de la enzima en la superficie del soporte.

En la Figura 5 se muestra la linealización de los modelos de adsorción para Lewatit S3428. Al igual que con la resina Lewatit 2431, esta muestra un comportamiento que sigue el modelo planteado por Langmuir.

Los dos soportes presentaron un comportamiento según el modelo de Langmuir, sugiriendo una adsorción monocapa. Esto es factible debido al área superficial ( $25 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  de Lewatit 2431), a los macroporos de las resinas, y la alta especificidad de adsorción entre la enzima y el grupo funcional de la resina de intercambio.

Esto muestra un comportamiento análogo entre los dos tipos de soporte. Sin embargo, debido a la diferencia estructural y de grupos funcionales de las dos resinas (sulfónicos para Lewatit 2431 y aminas terciarias para Lewatit S3428), es de esperar que la fuerza de adsorción de la enzima sea diferente.

Según Bryjack et al.[16] las enzimas inmovilizadas sobre resinas con grupos funcionales amino se adsorben químicamente mediante enlaces

Eliminado: ¶

Eliminado: Una vez determinadas e

Eliminado: stas correlaciones, es posible establecer

Eliminado: y

Eliminado: Inmovilización

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Eliminado: <sp>

Eliminado: Como se definió anteriormente

Eliminado: ,

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Eliminado: 31

Eliminado: ?

Eliminado: ¶

Eliminado: \*

Eliminado: \*

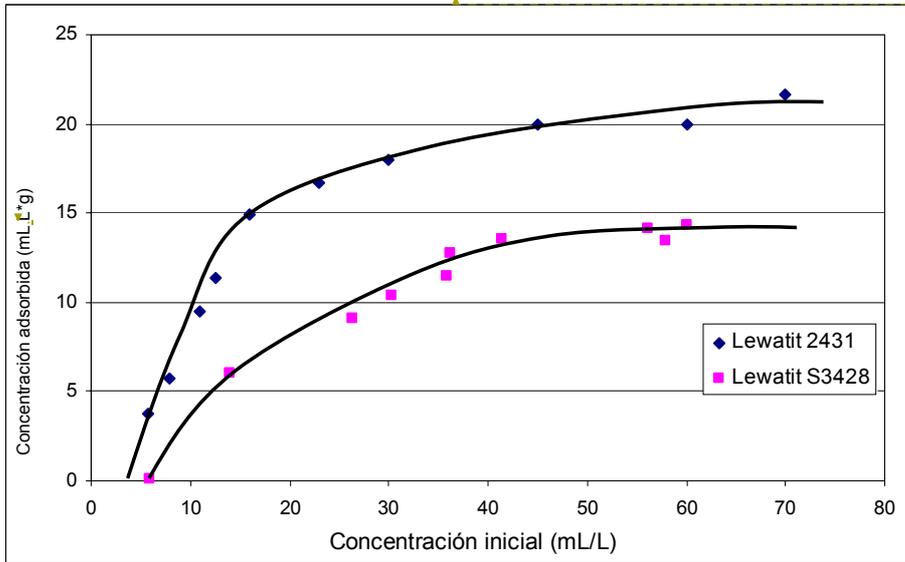
Eliminado: \*

Eliminado: \*

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

covalentes entre los grupos amino de la resina y los de la enzima.

Figura 3. Isotermas de adsorción para las resinas Lewatit 2431 y Lewatit S 3428.



Por lo tanto, aunque el comportamiento del proceso de inmovilización sea similar, no se puede asegurar que la conformación de la enzima inmovilizada es similar. Es decir, la enzima inmovilizada sobre Lewatit S3428 puede finalizar con una conformación estructural cerrada debido a los enlaces de tipo covalente, mientras que sobre la resina Lewatit 2431 la enzima puede haberse adsorbido con una conformación abierta como consecuencia de la adsorción de tipo netamente físico.

Las isotermas de adsorción permiten establecer la carga máxima que admite el soporte. Sin embargo, no es evidente la eficiencia de la inmovilización con respecto a la carga inicial. La Figura 6 muestra el porcentaje de enzima inmovilizada con respecto a la carga inicial de enzima en la solución de inmovilización. En ella se muestra que Lewatit 2431 tiene un porcentaje máximo de inmovilización del 91%, mientras que la inmovilización sobre Lewatit S 3428 es del 40%.

La carga inicial para la máxima cantidad de enzima inmovilizada de las dos resinas es muy similar, entre los 15 y 20 mL·L<sup>-1</sup>.

Esto indica que a altas concentraciones iniciales, no se logra mayor adsorción de la lipasa, lo que puede

atribuirse a un equilibrio adsorción-desorción entre el soporte y la enzima, el cual sugiere que a una determinada concentración de enzima, esta comienza a desorberse nuevamente del soporte.

La diferencia de máximos porcentajes de inmovilización a la misma concentración inicial para las dos resinas, sugiere una importante influencia de los grupos funcionales de los soportes sobre la estructura cuaternaria de la lipasa, la cual se ve favorecida para la interacción de grupos amino de la enzima con puntos de enlace de la Lewatit 2431 y que a la postre resulta en una mayor energía de enlace.

### Conclusiones

El método de Lowry es un método sencillo, económico y reproducible útil en la heterogeneización de enzimas. La longitud de onda con máxima absorbancia para la CALB es de 725 nm, en un intervalo donde el comportamiento del método es lineal ante distintas concentraciones de lipasa.

La cantidad máxima de enzima que puede ser inmovilizada sobre dos tipos distintos de resinas de intercambio iónico, encontrándose una mayor afinidad de la lipasa a permanecer inmovilizada en

Eliminado: ¶  
¶  
Eliminado: os soportes  
Con formato

Eliminado: /  
Eliminado: ¶  
¶  
-----Salto de sección (Continua)-----  
¶  
¶

Eliminado: ¶  
Eliminado: El comportamiento de la gráfica demuestra la existencia de un equilibrio de adsorción, que se presenta entre 15 y 20 mL L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> para Lewatit 2431 y entre 10 y 15 mL L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> para Lewatit S 3428.

Eliminado: A partir de este punto, no se justifica la adición de más cantidad de enzima a la solución inicial, ya que el exceso de lipasa queda en la solución residual y no logra adherirse al soporte.¶  
¶  
La isoterma de adsorción a la que se ajustan los datos experimentales depende de las características de la superficie del adsorbente. Los modelos más conocidos para la inmovilización de lipasas son:¶

Eliminado: ¶  
Eliminado: Isoterma d (... [91])

Eliminado: ¶  
Eliminado: Isoterma d (... [92])

Eliminado: ¶  
Eliminado: Isoterma de Redlich - Peterson: (... [93])

Eliminado: sea igual  
Eliminado: tener

Eliminado:  
Eliminado: coval

Eliminado: la  
Eliminado:

Eliminado: en  
Eliminado: a

Eliminado: ¶  
Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

la resina Lewatit 2431 con grupos funcionales superficiales sulfónicos.

Figura 4. Linealización de las isothermas de adsorción para verificación de ajuste a mecanismo de inmovilización sobre Lewatit 2431: Modelo a. Langmuir, b. Freundlich, c. Redlich-Peterson.

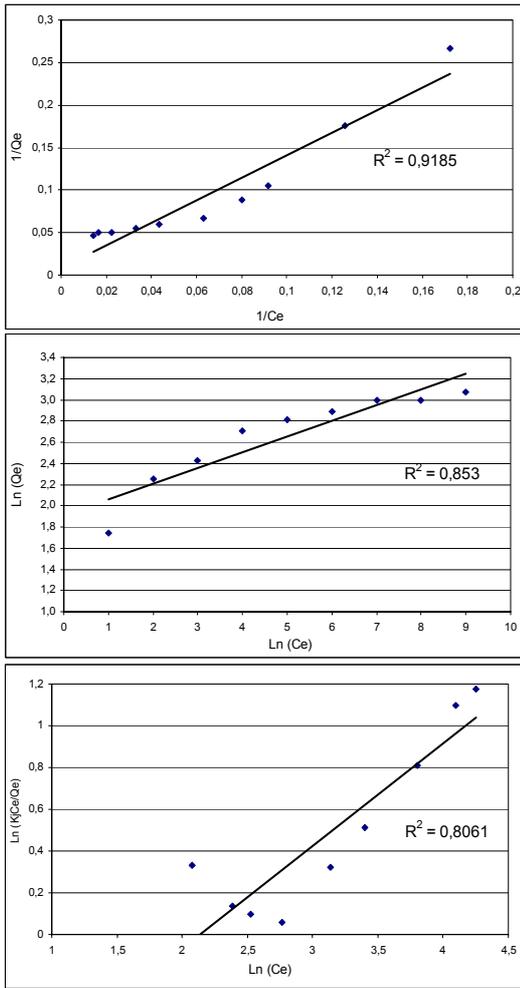
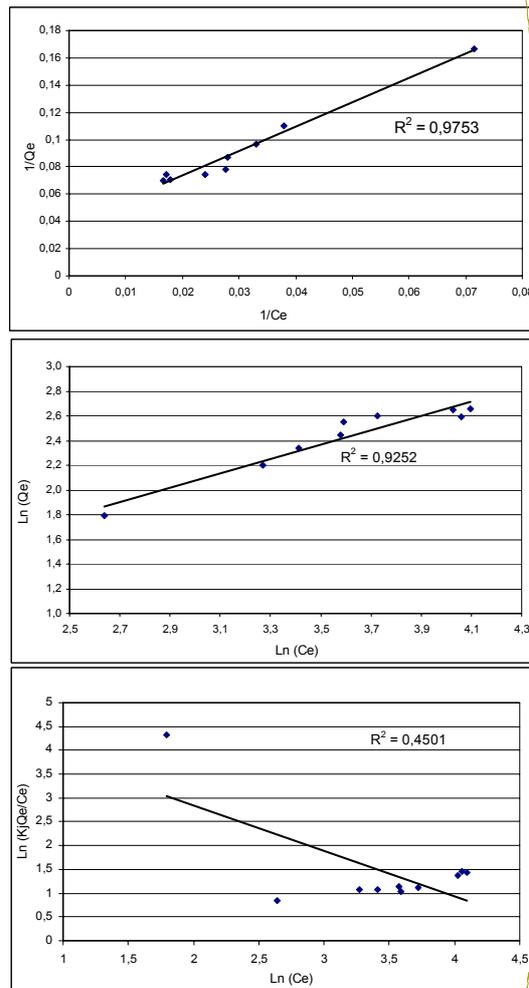


Figura 5. Linealización de las isothermas de adsorción para verificación de ajuste a mecanismo de inmovilización sobre Lewatit S 3428: Modelo a. Langmuir, b. Freundlich, c. Redlich-Peterson.



Eliminado: ¶  
 Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 9 pt, Negrita

Eliminado: ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶

Con formato: Normal, Justificado, Sin control de líneas viudas ni huérfanas, No ajustar espacio entre texto latino y asiático, No ajustar espacio entre texto asiático y

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 9 pt

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 9 pt

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Con formato: Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Eliminado: <sp>

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 10 pt

Eliminado: ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 ¶  
 Sin embargo, no es evic (... [94]

Con formato: Fuente: (Predeterminado) Arial, 9 pt, Negrita

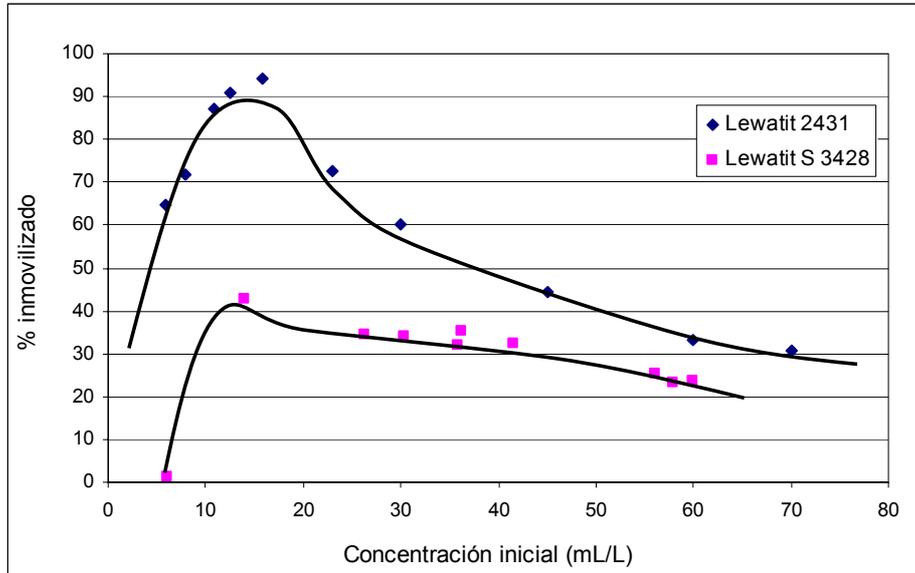
Eliminado: Figura 5. Linealización de las isothermas de adsorción para verifi (... [95]

Eliminado: ¶  
 ¶  
 (... [96]

Eliminado: ¶  
 ¶  
 (... [97]

Eliminado: ¶

Figura 6. Variación del porcentaje de lipasa adsorbido con la cantidad de enzima en la solución inicial para Lewatit 2431 y Lewatit S 2834.



Finalmente, se logró una aproximación a un posible modelamiento de la enzima sobre los soportes, encontrándose una curva de adsorción tipo Langmuir, sugiriendo una adsorción en monocapa.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Programa Semilleros de Investigación de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá a través del proyecto "Producción enzimática de esteres grasos caso monoestearato de glicerilo".

### Bibliografía

- Arroyo, M. "Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones". Ars Pharmaceutica. Vol. 39, 2. 1998.
- Fessner, W.D. (Editor). "Biocatalysis: from discovery to application". Springer. 2000
- Al-Zuhair, S. Hasan, M. Ramachandran, K.B. "Kinetics of the enzymatic hydrolysis of palm oil by lipase". Process Biochemistry. Vol. 38 No. 8. 2003. p. 1-9
- Bornscheuer, J. Bessler, C. Srinivas, R. Hari Krishna, S. "Optimizing lipases and related enzymes for efficient application". Trends in Biotechnology. Vol.

20 No. 10. 2002

- Cao, L. Bornscheuer, U. Schmid, R. "Lipase-catalyzed solid-phase synthesis of sugar esters. Influence of immobilization on productivity and stability of the enzyme". Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. Vol. 6. 1999. p. 279-285
- Marty, A. Bellot, J.C. Choisnard, L. Castillo, E. "Combining solvent engineering and thermodynamic modeling to enhance selectivity during monoglyceride synthesis by lipase-catalyzed esterification". Enzyme and Microbial Technology. Vol. 28. 2001. p 362-369.
- Ivanov, A. Schneider, M. "Methods for the immobilization of lipases and their use for ester synthesis". Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. Vol. 3. 1997. p. 303-309
- Mustranta, A. Forsell, P. Poutanen, K. "Applications of immobilized lipases to transesterification and esterification reactions in nonaqueous systems". Enzyme and Microbial Technology. Vol. 15. 1993. p. 133-139.
- Marty, A. Bellot, J.C. Choisnard, L. Castillo, E. "Combining solvent engineering and thermodynamic modeling to enhance selectivity during monoglyceride synthesis by lipase-catalyzed esterification". Enzyme and Microbial Technology. Vol. 28. 2001. p 362-369.

- Eliminado: Mediante ... [98]
- Eliminado: 32
- Eliminado: ¿ muestra ... [99]
- Eliminado: 33
- Eliminado: ¿ muestr ... [100]
- Eliminado: ¶ ... [101]
- Eliminado: Esto indic ... [102]
- Eliminado: ¶ ... [103]
- Eliminado: Aunque la ... [104]
- Eliminado: Durante la ... [105]
- Eliminado: ¶ ... [106]
- Eliminado: .....E ... [107]
- Con formato ... [108]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [109]
- Con formato ... [110]
- Eliminado: ¶ ... [111]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [111]
- Con formato ... [112]
- Eliminado: .....E ... [113]
- Con formato ... [114]
- Con formato ... [115]
- Eliminado: ¶ ... [116]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [117]
- Con formato ... [118]
- Eliminado: .....En ... [119]
- Eliminado: ¶ ... [120]
- Con formato ... [121]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [122]
- Eliminado: .....En ... [123]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [124]
- Eliminado: .....E ... [125]
- Con formato ... [126]
- Con formato ... [127]
- Con formato ... [128]
- Eliminado: , ... [129]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [130]
- Eliminado: .....E ... [131]
- Con formato ... [132]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [133]
- Eliminado: .....E ... [134]
- Con formato ... [135]
- Con formato: Numeración y viñetas ... [136]
- Eliminado: , ... [137]
- Con formato ... [137]
- Con formato ... [138]

10. Matsumoto, M., Ohashi, K. "Effect of immobilization on thermostability of lipase from *Candida Rugosa*". *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 14. 2003. p. 535-540.
11. Oliveira, P. C., Alves, G. M., Castro, H. F. "Immobilisation studies and catalytic properties of microbial lipase onto styrene-divinilbenzene copolymer". *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 5. 2000. p. 63-71.
12. Balcao, V., Paiva, A., Malcata, F. "Bioreactors with immobilized lipases: state of the art". *Enzyme and Microbial Technology*. Vol 18. 1996. p. 392-416.
13. Knezevic, Z., Bobic, S., Milutinovic, A., Obradovic, B. "Alginate-immobilized lipase by electrostatic extrusion for the purpose of palm oil hydrolysis in lecithin/isooctane system". *Process Biochemistry*. Vol. 38. 2002. p. 313-318.
14. Michiaki, M., Kunihiro, O. "Effect of immobilization on thermostability of lipase from *Candida rugosa*". *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 14. 2003. p. 75-77.
15. Moreno, J. M., Hernaiz, M. J., Sanchez-Montero, J. M. "Covalent immobilization of pure lipases A and B from *Candida Rugosa*". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. Vol. 2. 1997. p. 177-184.
16. Bryjak, J., Bachmann, K., Pawlow, B. "Immobilization of lipase on various acrylic copolymers". *Chemical Engineering Journal*. Vol 65. 1997 p. 249-256

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Eliminado: .....*Cándida...En* : [139]

Con formato: Numeración y viñetas

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: .....*E*... [140]

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: .....*E*... [141]

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: ..... [142]

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: .....*Cándida...En* : [143]

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: .....*Cándida...En* : [144]

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Con formato: Numeración y viñetas

Eliminado: ..... [145]

Eliminado: ¶  
¶  
¶

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Página 2: [1] Eliminado utilizados	Julio César Vargas	09/03/2005 22:40:00
Página 2: [1] Eliminado para la que se destine el catalizador obtenido	Julio César Vargas	09/03/2005 22:40:00
Página 2: [1] Eliminado insinúa la nueva	Julio César Vargas	09/03/2005 22:41:00
Página 2: [1] Eliminado l	Julio César Vargas	09/03/2005 22:41:00
Página 2: [2] Eliminado comercial	Julio César Vargas	09/03/2005 22:33:00
Página 2: [2] Eliminado uede s	Julio César Vargas	09/03/2005 22:33:00
Página 2: [2] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:33:00
Página 2: [2] Eliminado aumentos	Julio César Vargas	09/03/2005 22:33:00
Página 2: [3] Eliminado adsorbida	Julio César Vargas	09/03/2005 22:41:00
Página 2: [3] Eliminado en que	Julio César Vargas	09/03/2005 22:41:00
Página 2: [3] Eliminado , t	Julio César Vargas	09/03/2005 22:41:00
Página 2: [3] Eliminado ,	Julio César Vargas	10/03/2005 17:40:00
Página 2: [4] Eliminado ,	Julio César Vargas	10/03/2005 17:34:00
Página 2: [4] Eliminado en	Julio César Vargas	10/03/2005 17:34:00
Página 2: [4] Eliminado ,	Julio César Vargas	10/03/2005 17:34:00
Página 2: [4] Eliminado , las enzimas	Julio César Vargas	10/03/2005 17:34:00
Página 2: [5] Eliminado A menudo	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [5] Eliminado l	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [5] Eliminado . En primer lugar, se producen	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [5] Eliminado En segundo lugar,	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [6] Eliminado l	Julio César Vargas	09/03/2005 22:34:00
Página 2: [6] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:34:00
Página 2: [6] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:56:00

Página 2: [6] Eliminado mejor color	Julio César Vargas	10/03/2005 17:35:00
Página 2: [7] Con formato Texto independiente, Izquierda, Ajustar espacio entre texto latino y asiático, Ajustar espacio entre texto asiático y números	Julio César Vargas	10/03/2005 17:41:00
Página 2: [8] Eliminado La	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [8] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:42:00
Página 2: [8] Eliminado O	Julio César Vargas	09/03/2005 22:43:00
Página 2: [8] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:41:00
Página 2: [9] Eliminado prema	Julio César Vargas	09/03/2005 22:35:00
Página 2: [9] Eliminado escoger	Julio César Vargas	09/03/2005 22:36:00
Página 2: [9] Eliminado , mantenga	Julio César Vargas	09/03/2005 22:36:00
Página 2: [10] Eliminado pocos	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Página 2: [10] Eliminado grupos de investigación	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Página 2: [10] Eliminado enfocado en l	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Página 2: [10] Eliminado Entre ellos	Julio César Vargas	09/03/2005 22:38:00
Página 2: [10] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:38:00
Página 2: [11] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:38:00
Página 2: [11] Eliminado un proceso catalizado por la	Julio César Vargas	09/03/2005 22:39:00
Página 2: [11] Eliminado B	Julio César Vargas	09/03/2005 22:39:00
Página 2: [11] Eliminado (	Julio César Vargas	09/03/2005 22:39:00
Página 2: [11] Eliminado ) . En una primera etapa, se determinaron las condiciones de operación más adecuadas. Este tiene como objetivo estudiar	Julio César Vargas	09/03/2005 22:39:00
Página 2: [12] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:54:00

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

<b>Propiedad</b>	<b>Método</b>	<b>Inclusión en Membranas</b>	<b>Atrapamiento</b>	<b>Reticulado</b>	<b>Adsorción Química</b>	<b>Unión</b>
<b>Preparación</b>		Intermedia	Difícil	Intermedia	Sencilla	Difícil
<b>Fuerza de unión</b>		Débil	Media	Débil – media	Media	Fuerte
<b>Actividad enzimática</b>		Media – alta	Baja	Baja	Media	Alta
<b>Regeneración del soporte</b>		Posible	Imposible	Imposible	Posible	Difícil
<b>Costo del proceso</b>		Medio – alto	Medio	Medio	Bajo	Alto
<b>Estabilidad</b>		Media	Alta	Alta	Baja	Alta
<b>Resistencia microbiana</b>		Sí	Sí	Sí	No	No

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 2: [13] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

**Página 3: [14] Con formato** **Julio César Vargas** **09/03/2005 22:37:00**

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Página 3: [15] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [16] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt, Negrita		
Página 3: [17] Cambio	Julio César Vargas	10/03/2005 17:57:00
Tabla con formato		
Página 3: [18] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [19] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Justificado		
Página 3: [20] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt, Negrita		
Página 3: [20] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [21] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [22] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt, Negrita		
Página 3: [22] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [23] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Justificado		
Página 3: [24] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [25] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt, Negrita		
Página 3: [25] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [26] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Justificado		
Página 3: [27] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [28] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Justificado		
Página 3: [29] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt, Negrita		
Página 3: [29] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [30] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
Fuente: 10 pt		
Página 3: [31] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00

Justificado

Página 3: [32] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt, Negrita

Página 3: [32] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt

Página 3: [33] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt

Página 3: [34] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Justificado

Página 3: [35] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt, Negrita

Página 3: [35] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt

Página 3: [36] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt

Página 3: [37] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Justificado

Página 3: [38] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt, Negrita

Página 3: [38] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 17:56:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt

Página 3: [39] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Página 3: [40] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:51:00
--------------------------	--------------------	---------------------

.....Salto de sección (Continua).....

.....Salto de sección (Página siguiente).....

Página 3: [41] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 18:14:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: 10 pt, Sin Negrita

Página 3: [42] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Página 3: [43] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
--------------------------	--------------------	---------------------

cabo. La selección del soporte debe estar precedida por estudios de caracterización del sistema enzima – soporte [13,14,15].

Página 3: [44] Eliminado	usuario	27/02/2005 10:06:00
--------------------------	---------	---------------------

Tabla

Página 3: [45] Eliminado	usuario	26/02/2005 19:37:00
--------------------------	---------	---------------------

1. Comparación de los métodos de inmovilización.

Página 3: [46] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 16:24:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: Sin Negrita

Página 3: [47] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:46:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Página 3: [47] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:43:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Aunque se han desarrollado y aplicado muchas técnicas de inmovilización a numerosas enzimas, se reconoce que no existe un método universal válido para todas las enzimas en todos los casos. No obstante, gracias a toda la información disponible en la actualidad, se pueden hacer generalizaciones sobre cada método de inmovilización

Página 3: [48] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:43:00
--------------------------	--------------------	---------------------

como se muestra en la

Página 3: [49] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:43:00
--------------------------	--------------------	---------------------

y así, seleccionar el método más adecuado para cada aplicación específica. La elección ha de tener en cuenta las condiciones de la reacción biocatalizada, el tipo de reactor que se ha de utilizar, el tipo de sustrato que va a ser procesado y otros factores.

En general, los métodos de separación catalogados como difíciles y de mayor costo

Página 3: [50] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:43:00
--------------------------	--------------------	---------------------

proporcionan biocatalizadores más estables y duraderos; en cambio aquellos métodos más sencillos como el atrapamiento o la adsorción, donde la unión de la

Página 3: [51] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:50:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Sin control de líneas viudas ni huérfanas, No ajustar espacio entre texto latino y asiático, No ajustar espacio entre texto asiático y números

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:42:00
--------------------------	--------------------	---------------------

el diseño de experimentos se

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:47:00
--------------------------	--------------------	---------------------

a

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:43:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Debido a que la literatura es variada y los trabajos reportados no son fácilmente

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:44:00
--------------------------	--------------------	---------------------

bles, pues cada grupo de investigadores usa su propia metodología y

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:45:00
--------------------------	--------------------	---------------------

presenta los

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:45:00
--------------------------	--------------------	---------------------

de forma diferente

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:45:00
--------------------------	--------------------	---------------------

, e

Página 3: [52] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:47:00
--------------------------	--------------------	---------------------

busca

Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:48:00
Basados		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:49:00
y discutidos anteriormente		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:46:00
eligen		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:49:00
molecular		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:49:00
llevar a cabo		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:50:00
: Lewatit 2431		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:50:00
y		
Página 3: [53] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:50:00
, respectivamente		
Página 3: [54] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:31:00

Descripción teórica de los modelos de equilibrio de adsorción. Ecuaciones de los ajustes.

Página 3: [55] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin control de líneas viudas ni huérfanas		
Página 3: [56] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:44:00
La literatura corriente carece de una aproximación sistemática a la inmovilización de lipasas. La selección de un soporte adecuado debe estar precedida por estudios de caracterización que arrojen información fundamental para ser usada como guías para otros sistemas lipasa – soporte. El modelamiento del equilibrio de adsorción de lipasa permite un acercamiento más confiable que aquellos métodos al azar que sólo proveen información del sistema estudiado.		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:50:00
los soportes estudiados		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:51:00
implican		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:51:00
un		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:48:00
por tal razón se habla de		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:49:00
Sin embargo		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:51:00
,		
Página 3: [57] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:51:00
sin desperdiciar enzima.		
Página 3: [58] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:52:00
consta		
Página 3: [58] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:52:00
de		
Página 3: [58] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 22:52:00
*		
Página 3: [59] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:33:00

Página 3: [59] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:32:00
--------------------------	---------	---------------------

Página 3: [59] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:32:00
--------------------------	---------	---------------------

Página 3: [60] Eliminado contra	Julio César Vargas	09/03/2005 22:52:00
------------------------------------	--------------------	---------------------

Página 3: [60] Eliminado *	Julio César Vargas	09/03/2005 22:52:00
-------------------------------	--------------------	---------------------

Página 3: [61] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:33:00
--------------------------	---------	---------------------

Página 3: [61] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:33:00
--------------------------	---------	---------------------

Página 4: [62] Eliminado Las resinas fueron suministradas por Bayer.	Julio César Vargas	09/03/2005 23:01:00
---	--------------------	---------------------

Página 4: [63] Eliminado	usuario	05/03/2005 19:00:00
--------------------------	---------	---------------------

#### 2.1.1.4 Solución buffer

Página 4: [64] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 17:58:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [64] Eliminado incolora e inodora	Julio César Vargas	09/03/2005 23:01:00
--	--------------------	---------------------

Página 4: [64] Eliminado ;	Julio César Vargas	09/03/2005 23:01:00
-------------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [65] Eliminado	usuario	05/03/2005 19:00:00
--------------------------	---------	---------------------

Página 4: [65] Eliminado fusión	usuario	05/03/2005 19:00:00
------------------------------------	---------	---------------------

Página 4: [65] Eliminado	usuario	05/03/2005 19:00:00
--------------------------	---------	---------------------

#### 2.1.2 Equipos Si va?

La inmovilización se llevó a cabo sobre una plancha de agitación magnética en erlenmeyer de 50 mL agitando a 200 rpm,

Página 4: [66] Eliminado como se muestra en la Figura 23.	Todos menos Caro	13/02/2005 21:52:00
--	------------------	---------------------

Página 4: [67] Eliminado	usuario	26/02/2005 19:50:00
--------------------------	---------	---------------------

#### 2.1.3 Determinación de concentración de proteína

Página 4: [68] Eliminado an	Julio César Vargas	09/03/2005 23:01:00
--------------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [68] Eliminado ponen	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
-----------------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [68] Eliminado e	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
-------------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [69] Con formato Sin control de líneas viudas ni huérfanas	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
---	--------------------	---------------------

Página 4: [70] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

### Resultados

Página 4: [71] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

hacia  $\alpha$  –monoglicéridos obtenida en el primer ciclo óptimas de inmovilización.

Página 4: [72] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [73] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:06:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Fuente: Sin Negrita

Página 4: [74] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Determinación de proteína

Página 4: [75] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Antes de llevar a cabo la inmovilización de la enzima en el soporte fue necesario realizar algunos ensayos preliminares con miras a obtener resultados confiables en la determinación de la cantidad de proteína de las soluciones. La medición de la coloración dada por los enlaces peptídicos es diferente para cada tipo de proteína. Es necesario realizar primero la determinación de la longitud de onda para la cual se da la máxima absorbancia para la Lipozyme estudiada. Para ello se realizó un barrido de la absorbancia en función de la longitud de onda, para una concentración de Lipozyme determinada.

Página 4: [76] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:08:00
--------------------------	--------------------	---------------------

, la máxima absorbancia se presenta en una longitud de onda de 725nm, a la cual se realizaron el resto de las mediciones de cantidad de proteína para Lipozyme.

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

a

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

construye

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

n

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

3

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:03:00
--------------------------	--------------------	---------------------

ace

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:03:00
--------------------------	--------------------	---------------------

un

Página 4: [77] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:03:00
--------------------------	--------------------	---------------------

otra

Página 4: [78] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 18:01:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Izquierda, Sangría: Izquierda: -0.4 cm, Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Página 4: [79] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:03:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Adicionalmente, a partir de la mejor isoterma de equilibrio, se puede determinar una curva de adsorción–desorción para la concentración óptima de enzima, la cual se escoge haciendo una analogía con la teoría de Michaelis–Menten, realizando un seguimiento en el tiempo de la cantidad de proteína adsorbida por el soporte.

Página 4: [80] Eliminado	Todos menos Caro	13/02/2005 21:53:00
--------------------------	------------------	---------------------

de la rapidez con la que se requieran los resultados. Comúnmente se utilizan dos métodos para determinar la concentración de proteína: la absorbancia y el análisis químico. El método de la absorbancia tiene dos ventajas: no es destructivo (se puede recuperar la proteína) y es simple. Sin embargo, presenta dos desventajas: no permite analizar mezclas de proteínas y su sensibilidad es limitada. El análisis químico depende de la reacción de la proteína con un compuesto para producir ya sea un cromógeno o un fluorógeno. Es relativamente insensible al tipo de proteína analizada y su sensibilidad es de 5 a 10 veces comparada con el método de

absorbancia.

Los métodos químicos más utilizados son Bradford, BCA (ácido bicínico) y Lowry. El método de Bradford depende de la unión de la proteína al colorante azul de *coomasie* en una solución de ácido fosfórico, mientras que el ensayo BCA se basa en la reducción del ión Cu +2 a Cu +1 por enlaces peptídicos y la formación de un complejo coloreado con ácido bicínico.

Aunque los dos ensayos dan buenos resultados, el reactivo de Bradford es engañoso, pierde potencia con el tiempo y colorea todo lo que entra en contacto, mientras que el ensayo BCA es más costoso.

De los tres,

Página 4: [81] Eliminado	usuario	26/02/2005 19:51:00
--------------------------	---------	---------------------

es el más barato y preciso.

Página 4: [82] Eliminado	Todos menos Caro	13/02/2005 21:55:00
--------------------------	------------------	---------------------

Una de las desventajas del método de Lowry es que es altamente sensible a los cambios de pH, por lo tanto debe llevarse a cabo a pH entre 10 y 10,5. Sin embargo, es sensible a las concentraciones bajas de proteína. Varios compuestos pueden interferir en el procedimiento, como derivados de aminoácidos, algunos buffers, drogas, lípidos, azúcares, sales y ácidos nucleicos. El ácido úrico, la guanina, la xantina y los fenoles reaccionan con el reactivo de Folin, presentando interferencias. El sulfato amónico en concentraciones de 0.15% disminuye el desarrollo del color. El método presenta desventajas en el análisis de pequeñas cantidades de proteína o en el análisis comparativo de un gran número de muestras similares.

Página 4: [83] Eliminado	usuario	05/03/2005 19:01:00
--------------------------	---------	---------------------

### 2.1.3.1 Equipos

Página 4: [84] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
----------------------------	--------------------	---------------------

Sin control de líneas viudas ni huérfanas

Página 4: [85] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:09:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Además es necesario establecer

Página 4: [85] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 18:02:00
--------------------------	--------------------	---------------------

si la

Página 4: [86] Eliminado	usuario	05/03/2005 18:34:00
--------------------------	---------	---------------------

Para la determinación de proteína se utilizó un espectrofotómetro de laboratorio HACH ODYSSEY modelo DR/2500 con sistema óptico concéntrico, como el que se muestra en la Figura 24.

Página 4: [87] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:05:00
--------------------------	--------------------	---------------------

fue realizada

Página 4: [87] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:05:00
--------------------------	--------------------	---------------------

ref

Página 4: [87] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:05:00
--------------------------	--------------------	---------------------

de

Página 4: [87] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:06:00
--------------------------	--------------------	---------------------

fue puesta a secado

Página 4: [87] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:06:00
--------------------------	--------------------	---------------------

l am

Página 4: [88] Eliminado	usuario	06/03/2005 22:50:00
--------------------------	---------	---------------------

ó

Página 4: [88] Eliminado	usuario	27/02/2005 10:12:00
--------------------------	---------	---------------------

; resultados que se muestran en la Tabla 5

Página 4: [89] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:10:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Como se muestra en la Figura 30,

Página 4: [90] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:10:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Se obtuvo un factor de correlación de 0,974 para una línea recta, en un intervalo de dilución de

Lipozyme de 1 a 0,1(ver Figura 2).

Página 6: [91] Eliminado Julio César Vargas 09/03/2005 23:12:00

$$\text{Isoterma de Langmuir: } Q_e = \frac{K_L C_e}{1 + \alpha_L C_e}$$

Página 6: [92] Eliminado Julio César Vargas 09/03/2005 23:12:00

$$\text{Isoterma de Freundlich: } Q_e = K_F C_e^{1/n}$$

Página 6: [93] Eliminado Julio César Vargas 09/03/2005 23:12:00

$$\text{Isoterma de Redlich – Peterson: } Q_e = \frac{K_J C_e}{1 + b_J C_e^\beta}$$

Mediante linealización de los tres modelos de isothermas, se obtuvieron los ajustes de los datos experimentales para las isothermas de Langmuir, Freundlich y Redlich-Peterson. La Figura 4 muestra los resultados obtenidos para Lewatit 2431. En ella se muestra que el modelo que más se ajusta es el propuesto por Langmuir. Debido a que las lipasas se unen al soporte en varios puntos de contacto, una isoterma de adsorción con alta afinidad al modelo de Langmuir indica que las moléculas de Lipozyme forman una monocapa sobre la superficie de la resina. Este ajuste permite asumir que todos los puntos de unión son energéticamente equivalentes. La isoterma también permite presumir una adsorción irreversible de la enzima en la superficie del soporte.

La Figura 5 muestra la linealización de los modelos de adsorción para Lewatit S3428. Al igual que con el otro soporte, este muestra un comportamiento según el modelo planteado por Langmuir.

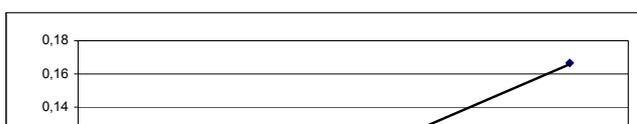
Los dos soportes presentaron un comportamiento según el modelo de Langmuir, sugiriendo una adsorción monocapa. Esto es factible debido a las altas áreas superficiales ( $25 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  de Lewatit 2431) y a los macroporos de las resinas, lo cual deja una gran área disponible por molécula de enzima haciendo poco probable la aglomeración de enzima en multicapas.

Esto muestra un comportamiento análogo entre los dos tipos de soporte. Sin embargo, debido a la diferencia estructural y de grupos funcionales de las dos resinas (sulfónicos para Lewatit 2431 y aminas terciarias para Lewatit S3428), es de esperar que el tipo de adsorción de la enzima sea diferente. Según Bryjack et al.[16] las enzimas inmovilizadas sobre resinas con grupos funcionales amino se adsorben químicamente mediante enlaces covalentes entre los grupos amino de la resina y los de la enzima.

Página 7: [94] Eliminado Julio César Vargas 09/03/2005 23:23:00

Sin embargo, no es evidente la eficiencia de la inmovilización con respecto a la carga inicial. La Figura 6 muestra el porcentaje de enzima inmovilizada con respecto a la carga inicial de enzima en la solución de inmovilización. En ella se muestra que Lewatit 2431 tiene un porcentaje máximo de inmovilización del 91%, mientras que el de Lewatit S 3428 es del 40%.

La carga inicial para la máxima cantidad de enzima inmovilizada de las dos resinas es muy similar,  $15\text{-}20 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ .



Página 7: [95] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:23:00
<b>Figura 5.</b> Linealización de las isothermas de adsorción para verificación de ajuste a mecanismo de inmovilización sobre Lewatit S 3428: Modelo a. Langmuir, b. Freundlich, c. Redlich-Peterson.		
Página 7: [96] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:25:00

Página 7: [97] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:24:00
--------------------------	--------------------	---------------------

Página 8: [98] Eliminado	usuario	05/03/2005 19:16:00
<b>Mediante linealización de los tres modelos de isothermas, se obtuvieron los ajustes de los datos experimentales para las isothermas de Langmuir, Freundlich y Redlich-Peterson. La Figura</b>		

Página 8: [99] Eliminado	usuario	27/02/2005 10:20:00
¿ muestra los resultados obtenidos para Lewatit 2431. En ella se muestra que el modelo que más se ajusta es el propuesto por Langmuir. Debido a que las lipasas se unen al soporte en varios puntos de contacto, una isoterma de adsorción con alta afinidad al modelo de Langmuir indica que las moléculas de Lipozyme forman una monocapa sobre la superficie de la resina. Este ajuste permite asumir que todos los puntos de unión son energéticamente equivalentes. La isoterma también permite presumir una adsorción irreversible de la enzima en la superficie del soporte.		

#### La Figura

Página 8: [100] Eliminado	usuario	27/02/2005 10:19:00
¿ muestra la linealización de los modelos de adsorción para Lewatit S3428. Al igual que con el otro soporte, este muestra un comportamiento según el modelo planteado por Langmuir.		

Página 8: [101] Eliminado	usuario	27/02/2005 10:26:00
---------------------------	---------	---------------------

Las isothermas de adsorción permiten establecer la carga máxima que admite el soporte. Sin embargo, no es evidente la eficiencia de la inmovilización con respecto a la carga inicial. La Figura 34 muestra el porcentaje de enzima inmovilizada con respecto a la carga inicial de enzima en la solución de inmovilización. En ella se muestra que Lewatit 2431 tiene un porcentaje máximo de inmovilización del 91%, mientras que el de Lewatit S 3428 es del 40%. La carga inicial para la máxima cantidad de enzima inmovilizada de las dos resinas es muy???

Página 8: [102] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:25:00
---------------------------	--------------------	---------------------

Esto indica que a concentraciones iniciales superiores, no se logra mayor adsorción de la lipasa. Esto puede deberse posiblemente a un equilibrio adsorción-desorción entre el soporte y la enzima, el cual sugiere que a una determinada concentración de enzima, esta comienza a desorberse nuevamente del soporte.

Página 8: [103] Eliminado

Julio César Vargas

09/03/2005 23:25:00

La diferencia de máximos porcentajes de inmovilización a la misma concentración inicial para las dos resinas, sugiere una importante influencia de los grupos funcionales de los soportes sobre la estructura cuaternaria de la lipasa, la cual se ve favorecida para la interacción de grupos amino de la enzima con puntos de enlace de la Lewatit 2431 y que a la postre resulta en una mayor energía de enlace.

## Conclusiones

Página 8: [104] Eliminado

Julio César Vargas

10/03/2005 18:04:00

Aunque la literatura es extensa en cuanto a estudios de inmovilización de lipasas, son pocos los grupos de investigación que se han enfocado en la producción vía enzimática de monoglicéridos. Entre ellos se han estudiado los monooleatos y los monolauratos; sin embargo, se desconocen estudios sobre la producción de monoestearato de glicerilo, siendo este el primer trabajo donde se estudia la afinidad enzima-sustrato entre Lipozyme y el ácido esteárico.

- Debido a la termoestabilidad de las enzimas, la mayoría de los estudios de inmovilización se realizan para reacciones con sustratos líquidos y bajas temperaturas de reacción. Este trabajo buscó aprovechar la alta termoestabilidad de la *Candida antarctica* para estudiar un sustrato sólido que obliga a trabajar a temperaturas altas (70 °C) para trabajar una mezcla en medio orgánico (no acuoso) y sin solvente. El estudio de la reacción bajo estas condiciones permitió determinar que el proceso es

viable económicamente, pues se ahorran procesos de purificación como destilación, obteniéndose conversiones y selectividades satisfactorias.

- Se determinó la carga máxima adsorbida por cada soporte, siendo de 20 mL de enzima L -1 de solución g -1 de Lewatit 2431 y de 15 mL de enzima L -1 de solución g -1 de Lewatit S3428. Junto con esta determinación se estudió el equilibrio de adsorción mediante el ajuste a modelos catalíticos. Los dos soportes presentaron un comportamiento según el modelo de Langmuir, sugiriendo una adsorción monocapa. Esto es factible debido a las altas áreas superficiales (25 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> de Lewatit 2431) y a los macroporos de las resinas, lo cual deja una gran área disponible por molécula de enzima haciendo poco probable la aglomeración de enzima en multicapas.

- Así mismo, se determinaron los máximos porcentajes de inmovilización para cada resina, siendo el de Lewatit 2431 del 90% y el de Lewatit S 3428 del 40%. Desde el punto de vista económico, es deseable que la mayor cantidad de enzima cargada inicialmente sea adsorbida por el soporte, por lo que Lewatit 2431 es la más apropiada según este parámetro.

Página 8: [105] Eliminado

Julio César Vargas

09/03/2005 23:28:00

Durante la realización de este trabajo se logró determinar un método sencillo, económico y reproducible para la determinación de enzima inmovilizada en una resina de intercambio iónico. El método de Lowry fue adaptado de forma conveniente, estableciendo la longitud de onda con máxima absorbancia para la CALB, y se verificó el comportamiento lineal del método ante distintas concentraciones de lipasa.

Se estableció la cantidad máxima de enzima que puede ser inmovilizada sobre dos tipos distintos de resinas de intercambio iónico, encontrándose una mayor afinidad de la lipasa a permanecer inmovilizada en la resina Lewatit 2431 con grupos funcionales superficiales sulfónicos.

Página 8: [105] Eliminado

Julio César Vargas

10/03/2005 18:06:00

del

Página 8: [105] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:32:00
. Esto sugiere		
Página 8: [105] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:32:00
Página 8: [105] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:32:00
tipo		
Página 8: [105] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:32:00
de la lipasa.		
Página 8: [106] Eliminado	Julio César Vargas	10/03/2005 18:06:00
Página 8: [107] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
,		
Página 8: [107] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
,		
Página 8: [107] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
,		
Página 8: [107] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
<u>En:</u>		
Página 8: [108] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin control de líneas viudas ni huérfanas		
Página 8: [109] Cambio	usuario	06/03/2005 11:22:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [110] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [111] Cambio	usuario	06/03/2005 11:24:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [112] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [113] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [113] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [113] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [113] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
<u>En:</u>		
Página 8: [114] Con formato	Julio César Vargas	10/03/2005 18:15:00
Español (España - alfab. internacional)		
Página 8: [115] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin viñetas ni numeración, Sin control de líneas viudas ni huérfanas		
Página 8: [116] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin control de líneas viudas ni huérfanas		
Página 8: [117] Cambio	usuario	06/03/2005 11:29:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [118] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [119] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		

Página 8: [119] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [119] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
En:		
Página 8: [120] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin control de líneas viudas ni huérfanas, No conservar con el siguiente		
Página 8: [121] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 22:37:00
Sin control de líneas viudas ni huérfanas		
Página 8: [122] Cambio	usuario	06/03/2005 11:22:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [123] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
,		
Página 8: [123] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
En:		
Página 8: [124] Cambio	usuario	06/03/2005 22:32:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [125] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [125] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [125] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [125] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
En:		
Página 8: [126] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [127] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [128] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [129] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [130] Cambio	usuario	06/03/2005 11:22:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [131] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
,		
Página 8: [131] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
,		
Página 8: [131] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:33:00
,		
Página 8: [131] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
En:		
Página 8: [132] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [133] Cambio	usuario	06/03/2005 22:36:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [134] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
,		
Página 8: [134] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00

Página 8: [134] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
Página 8: [134] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 8: [134] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
En:		
Página 8: [135] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [136] Cambio	usuario	06/03/2005 11:22:00
Numeración y viñetas con formato		
Página 8: [137] Con formato	Julio César Vargas	09/03/2005 23:35:00
Fuente: Sin Negrita		
Página 8: [138] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
Página 8: [138] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:36:00
Página 8: [138] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:37:00
En:		
Página 9: [139] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [139] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [139] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:00:00
Cándida		
Página 9: [139] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
En:		
Página 9: [140] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [140] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [140] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [140] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
En:		
Página 9: [141] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [141] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [141] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [141] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
En:		
Página 9: [142] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [142] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [142] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00
Página 9: [142] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:38:00

Página 9: [142] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
<u>En:</u>		
Página 9: [143] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [143] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [143] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:00:00
<i>Cándida</i>		
Página 9: [143] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
<u>En:</u>		
Página 9: [144] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [144] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [144] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [144] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:00:00
<i>Cándida</i>		
Página 9: [144] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
<u>En:</u>		
Página 9: [145] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [145] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [145] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
,		
Página 9: [145] Eliminado	Julio César Vargas	09/03/2005 23:39:00
<u>En:</u>		