

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE ESQUEMAS, FIGURAS y TABLAS	viii
ÍNDICE DE ESPECTROS	xiv
ABREVIATURAS y ACRÓNIMOS	xv
RESUMEN	xvii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Biotecnología y Biotransformaciones	1
1.1.1. Desarrollo sustentable y biotecnología	1
1.1.2. Biotransformaciones y biocatálisis	2
1.1.3. Antecedentes	3
1.1.4. Ventajas frente a la síntesis y al aislamiento desde una fuente natural.....	5
1.1.5. Generalidades de las enzimas usadas en biocatálisis	11
1.1.6. Estrategias de biotransformación: células enteras vs. enzimas aisladas	13
1.1.7. Clasificación de biotransformaciones	14
1.1.8. Metodología general para la biotransformación mediante microorganismos	16
1.2. Los hongos como agentes biotransformadores	22
1.2.1. Hongos y biotecnología	22
1.2.2. Biotransformaciones mediadas por hongos	24
1.2.3. <i>Aspergillus</i> sp	27
1.2.3.1. <i>Aspergillus niger</i>	28
1.2.3.2. <i>Aspergillus terreus</i>	29

1.3. Los monoterpenos como sustratos de biotransformación	31
1.3.1. Características generales de los terpenos	31
1.3.2. El d-limoneno	36
1.3.3. El 1,8-cineol	38
1.3.4. Transformaciones microbianas de monoterpenos	41
1.3.5. Biotransformación de limoneno	43
1.3.6. Biotransformación de cineol	54
1.4. Herbicidas de origen natural	62
1.4.1. Alelopatía. Aleloquímicos como modelos de herbicidas	62
1.4.2. Cineol y derivados	65
1.5. Objetivos	69
1.5.1. Objetivo general	69
1.5.2. Objetivos específicos	69
2. PARTE EXPERIMENTAL	72
2.1. Selección y mantenimiento de los microorganismos	72
2.2. Solventes, reactivos, materiales e instrumentos	73
2.2.1. Solventes	73
2.2.2. Reactivos, estándares, enzimas y reveladores cromatográfico	73
2.2.3. Materiales	75
2.2.4. Instrumentos	75
2.3. Recuperación de limoneno y sus productos de biotransformación desde el medio de transformación	76

2.4. Biotransformación de limoneno	82
2.4.1. Condiciones generales	82
2.4.2. Influencia del medio de cultivo y la geometría del sistema de fermentación	84
2.4.3. Aproximación al mecanismo enzimático implicado	89
2.5. Biotransformación de cineol	91
2.5.1. Condiciones generales	91
2.5.2. Influencia de las condiciones de bioconversión	94
2.5.2.1. Geometría del sistema y tiempo de reacción	94
2.5.2.2. Medio de cultivo	97
2.5.3. Determinación del rendimiento de la biotransformación	98
2.5.4. Separación, aislamiento y caracterización de los productos	101
2.5.5. Síntesis de derivados oxigenados del 1,8-cineol	104
2.5.6. Esporas como agente biocatalizador	110
2.5.7. Aceite de Eucalyptus como sustrato	111
2.6. Biotransformación enzimática de los hidroxicineoles	112
2.6.1. Acetilación de los productos de biotransformación en YMPG	113
2.6.2. Esterificación del (\pm)-2-exo-hidroxicineol sintético	115
2.6.3. Hidrólisis del (-)-acetato de 2-exo-hidroxicineol	117
2.7. Actividad biológica de los productos de bioconversión del 1,8-cineol y sus derivados	118
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	122
3.1. Recuperación del limoneno y sus productos de biotransformación desde el medio de cultivo	122
3.2. Biotransformación de limoneno	127

3.2.1. Influencia del medio de cultivo y la geometría del sistema	133
3.2.2. Aproximación al mecanismo enzimático	137
3.3. Biotransformación de 1,8-cineol	140
3.3.1. Influencia de los parámetros de la biotransformación	141
3.3.2. Determinación del rendimiento de la biotransformación	149
3.3.3. Aislamiento y caracterización de los productos de bioconversión	151
3.3.4. Esporas de <i>Aspergillus terreus</i> como agente biocatalizador	158
3.3.5. Aceite de <i>Eucalyptus</i> como sustrato de biotransformación	159
3.4. Obtención y caracterización de derivados por catálisis enzimática	161
3.5. Bioactividad de los productos de biotransformación del 1,8-cineol y derivados.....	168
4. CONCLUSIONES	178
5. BIBLIOGRAFÍA	181
ANEXO I. MEDIOS DE CULTIVO	208
ANEXO II. ESPECTROS DE RMN	212