

TÉCNICAS DE INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA PARA EL DESARROLLO DE BIONANOCATALIZADORES

KRAMER, Gustavo R. ^a; BRUERA, Florencia A. ^{b, c}; SADAÑOSKI, Marcela A. ^{b, c}; VELÁZQUEZ, Juan E. ^{b, c}; FONSECA, María I. ^{b, c}; ZAPATA, Pedro D. ^{b, c}; ARES, Alicia E. ^a

a) Universidad Nacional de Misiones. CONICET. Instituto de Materiales Misiones (IMAM). Programa de Materiales y Fisicoquímica (ProMyF).

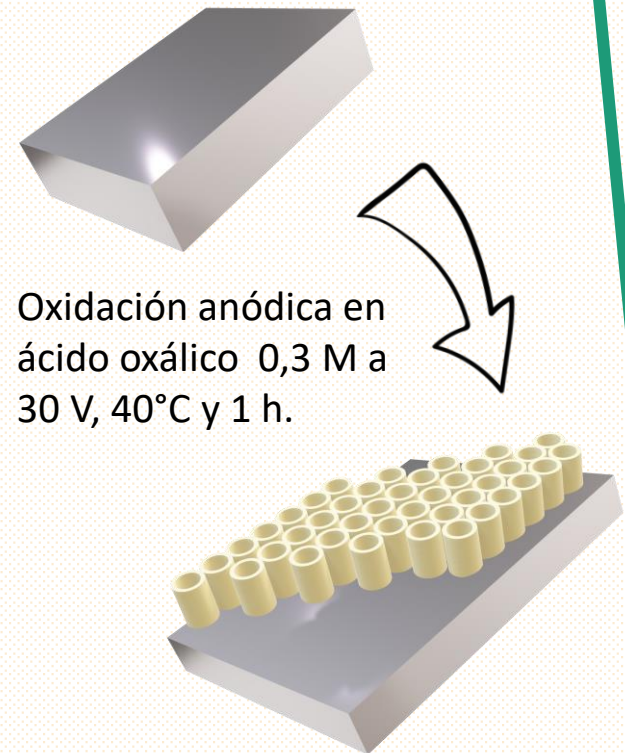
b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular.

c) CONICET

guskramer@gmail.com

Los avances en la nanotecnología han permitido el surgimiento de nuevos diseños y conformaciones de soportes enzimáticos nanométricos con capacidad de albergar mayor cantidad de enzimas y mejorar su actividad y estabilidad como el óxido de aluminio anódico (OAA). Existe una amplia variedad de métodos de inmovilización enzimática, que pueden utilizarse y adecuarse para desarrollar bionanocatalizadores de interés industrial. Las enzimas Lacasas catalizan la oxidación de una gran variedad de compuestos fenólicos con aplicaciones prometedoras en la decoloración de tintes y degradación de xenobióticos para el tratamiento de aguas residuales. **El objetivo de este trabajo fue comparar cuatro métodos de inmovilización de Lacasas sobre OAA, a fin de desarrollar bionanocatalizadores oxidativos con elevada actividad y estabilidad enzimática.**

Síntesis de recubrimientos de OAA



Extracto Enzimático Lacasa (EELac)



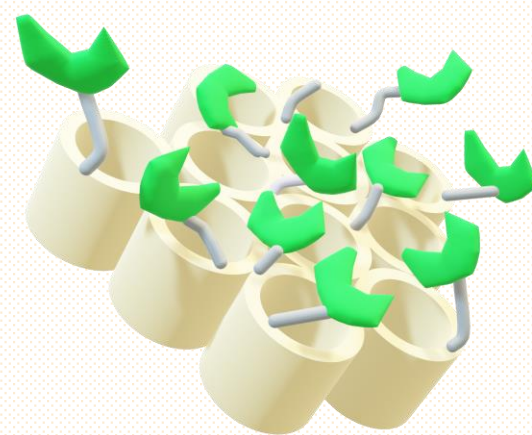
Se produjo extracto enzimático crudo de **Lacasa** a partir del cultivo de *Phlebia brevispora* BAFC 633 y posterior precipitación del sobrenadante con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 51,6 % (mv^{-1}).

Inmovilización enzimática

Lac sobre OAA utilizando EELac + buffer acetato de sodio (AcNa) de concentración 1058 UL^{-1} , durante 1 h mediante:

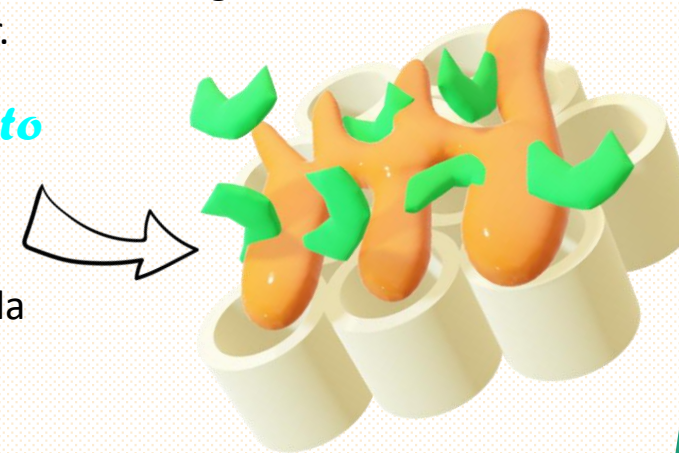
Inmovilización por adsorción

OAA en solución EELac + buffer.



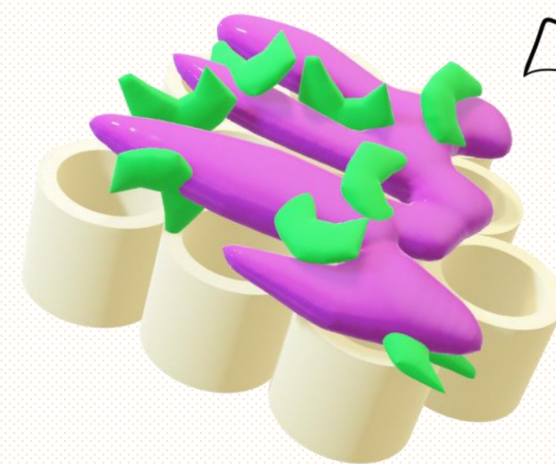
Inmovilización por enlace covalente

OAA con 3-amino-propiltrióxido de silano, trietanolamina y acetonitrilo (ACN), luego con N,N - carbonildiimidazol en ACN. El OAA activado se sumergió en solución EELac + buffer.



Inmovilización por atrapamiento físico con quitosano (Q)

OAA en solución EELac + buffer + quitosano. Luego se aplicó una película protectora de Q.



Inmovilización por atrapamiento físico con alginato de sodio

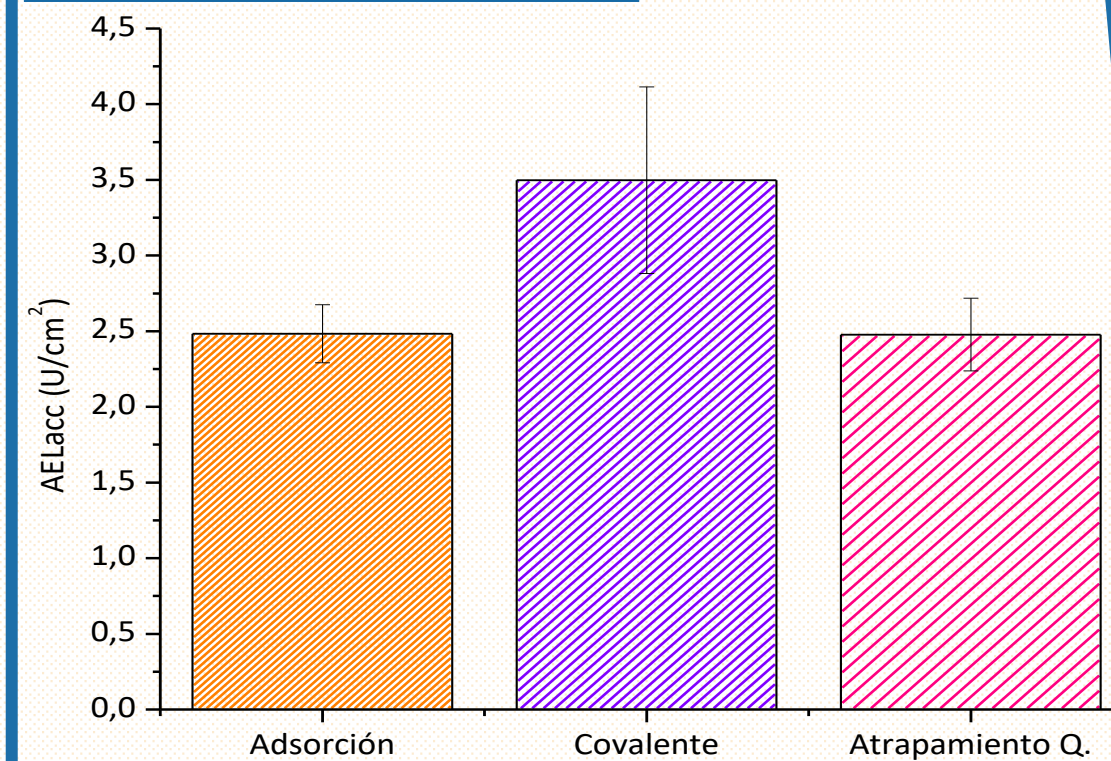
OAA en solución EELac + buffer + alginato de sodio. Reacción posterior con CaCl_2 .

Actividad específica Lacasa (AELac)

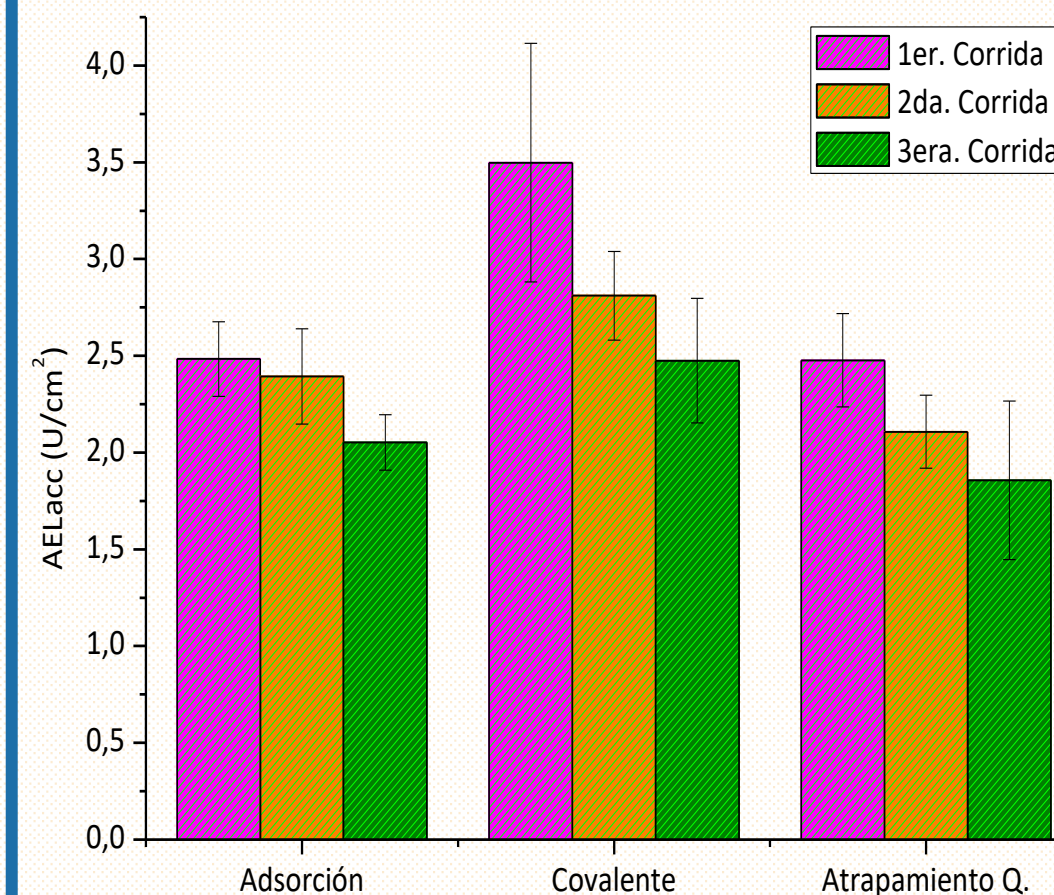
En espectrofotómetro UV - visible a 469 nm con 2,6-dimetoxifenol 5 mM + buffer AcNa

METODOLOGÍA

Actividad vs método



Ciclos de uso vs método



RESULTADOS

- Se inmovilizaron satisfactoriamente enzimas lacasas sobre estructuras nanoporosas de óxido de aluminio anódico.

- Se determinó la mayor actividad enzimática en los nanocatalizadores producidos mediante inmovilización por enlace covalente. Por otro lado, no se detectó actividad enzimática en los soportes utilizados en la inmovilización con alginato de sodio.

- No se evidenció pérdida significativa de la actividad de los bionanocatalizadores luego de tres usos ó corridas.



CONCLUSIONES