

## REMOCION DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN AGUA, USANDO LA ENZIMA PEROXIDASA DE NABO MODIFICADA QUÍMICAMENTE E INMOVILIZADA

Mauricio Gómez Suarez<sup>1</sup>, Francisco Quintanilla<sup>1</sup>, Blanca E. García<sup>1</sup>, Rafael Vázquez-Duhalt<sup>2</sup>, Carlos Regalado\*<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>DIPA, PROPAC, Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas s/n Queretaro, 76010, Qro. <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología UNAM Av. Universidad 2001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos 62215. Fax: (442)1921304. ajaxmau@hotmail.com, \*carlosr@uaq.mx

Palabras clave: *Peroxidasa de nabo, modificación química, metoxipoliethylénglicol*

**Introducción.** La peroxidasa es una oxidoreductasa que cataliza la oxidación de compuestos fenólicos con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como aceptor final de electrones. Esta enzima remueve de manera eficiente compuestos fenólicos de aguas residuales mediante polimerización oxidativa (1). El objetivo de este trabajo fue utilizar una peroxidasa de nabo (*Brassica napus L. Var. Esculenta D.C*), modificarla químicamente y emplearla inmovilizada en la remoción de compuestos fenólicos.

**Metodología.** Se purificó la peroxidasa del nabo (PN) de acuerdo con (2). Una unidad (U) de actividad representa los  $\mu$ moles de ABTS oxidados por min a 25°C. Se modificó la enzima purificada con metoxipoliethylénglicol (MPEG) (3), seguido de inmovilización en alginato de sodio. Se usó agua residual de una empresa de petróleos, conteniendo 15 mM de compuestos fenólicos totales.

**Resultados y discusión.** Mediante cromatografías de intercambio aniónico y filtración en gel, se obtuvo la PN con actividad de 1325 U mg<sup>-1</sup>. El 80% de los grupos amino de la PN fueron modificados. Esta preparación muestra menor movilidad electroforética que la enzima nativa (Fig. 1), debido a que las moléculas de MPEG rodean a la proteína.

La modificación química produjo cambios en las propiedades catalíticas. Tanto la PN nativa como la modificada, muestran un valor similar de  $K_M$  con ABTS como sustrato (Cuadro 1). Sin embargo, la PN modificada muestra un valor mayor de  $k_{cat}$ , mientras que la eficiencia catalítica ( $k_{cat}/K_M$ ) se incrementa levemente debido a la modificación. Se utilizó la PN modificada e inmovilizada en la remoción de compuestos fenólicos del

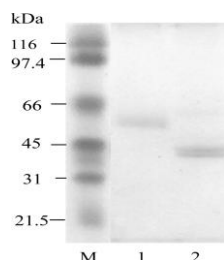


Fig. 1. SDS-PAGE desnaturalizante y reductora de la peroxidasa de nabo. Carriles: M, marcador peso molecular; 1, enzima modificada (5  $\mu$ g); 2, enzima nativa (50 ng).

Cuadro 1. Parámetros cinéticos y energía de activación para la inactivación térmica de la PN nativa y modificada.

| Enzima     | $K_M$ (mM)                   | $k_{cat}$ (s <sup>-1</sup> ) | $k_{cat}/K_M$ (s <sup>-1</sup> mM <sup>-1</sup> ) | $E_a$ (kJ/mol) <sup>a</sup> |
|------------|------------------------------|------------------------------|---|-----------------------------|
| Nativa     | 0.56 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> | 33000 $\pm$ 70 <sup>a</sup>  | 59000 $\pm$ 1700 <sup>a</sup>                     | 113.9 $\pm$ 5 <sup>a</sup>  |
| Modificada | 0.60 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> | 38000 $\pm$ 55 <sup>b</sup>  | 63000 $\pm$ 1800 <sup>a</sup>                     | 168.2 $\pm$ 7 <sup>b</sup>  |

<sup>a</sup> Evaluado a 70 °C. Valores en las columnas con distinta letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ), usando la prueba de Tukey.

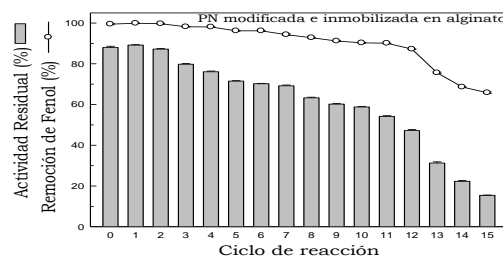


Figura 2. Actividad residual y eficiencia en la remoción de fenoles por la PN (1.2 U mL<sup>-1</sup>) modificada e inmovilizada.

agua residual (Fig. 2). Reacciones sucesivas, por espacio de 10 min, mostraron en los primeros 11 ciclos una remoción mayor al 90%, y >60% durante 15 ciclos.

**Conclusiones.** La PN purificada, modificada químicamente e inmovilizada mostró mayor estabilidad térmica e incrementó su eficiencia catalítica. Se logró su eficiente reutilización en la remoción de concentraciones altas de compuestos fenólicos en agua residual industrial.

**Agradecimiento.** Agradecemos apoyo de beca CONACYT a FQ, y apoyo SNI-Licenciatura a MGS.

### Bibliografía

- Regalado, C.; García, B.; Duarte-Vázquez, M. (2004). Biotechnological applications of peroxidase. *Phytochem. Rev.* vol. 3: 243–256.
- Duarte-Vázquez, M.; García-Almendárez, B.; Regalado-González, C.; Whitaker, J. (2000). Purification and partial characterization of three turnip (*Brassica napus L. var. esculenta D.C.*) peroxidases. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48: 1574–1579.
- Tinoco, R.; Vázquez-Duhalt, R. (1998). Chemical modification of cytochrome C improves their catalytic properties in oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 22: 8–12.