



## CARACTERIZACION DE MATRICES DE POLIELECTROLITOS NATURALES CON ALTA CAPACIDAD DE ADSORBER PROTEINAS Y SU APLICACIÓN PARA RECUPERAR ENZIMAS.

Ana Catarina Santos Leite Da Silva<sup>1</sup>, Nadia Voitovich Valetti<sup>1</sup>, M. Emilia Brassesco<sup>1</sup>, José António Couto Teixeira<sup>2</sup>  
Guillermo A. Picó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ - CONICET). Universidad Nacional de Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centre of Biological Engineering, Universidade do Minho, Braga, Portugal. [gpico@fbioyf.unr.edu.ar](mailto:gpico@fbioyf.unr.edu.ar)

*Palabras clave:* alginato, goma guar, quimotripsina, adsorción.

**Introducción:** La gran demanda industrial de enzimas exige el diseño de nuevos métodos de bioseparación que puedan ser escalados[1]. La adsorción es un camino interesante si se obtienen matrices económicas, reutilizables y no contaminantes. Una opción son las matrices formadas por polisacáridos naturales ya que los mismos son biodegradables, de bajo costo y es conocida su capacidad de absorber proteínas[2, 3]. Durante este trabajo se estudió la interacción entre dos polímeros naturales (alginato y goma guar) para la formación de matrices insolubles y se realizaron estudios con el fin de determinar su capacidad de adsorber una enzima de importancia industrial: quimotripsina (QT).

**Metodología:** Se prepararon soluciones de ambos polímeros en diferentes proporciones y las mismas se gotearon sobre CaCl<sub>2</sub> para obtener esferas uniformes que fueron entrecruzadas utilizando epiclorohidrina. La adsorción de QT se realizó en batch y se siguió por medidas de absorbancia. Se obtuvieron las curvas de adsorción en el tiempo y las isotermas de adsorción en el equilibrio.

**Resultados:** En la tabla 1 se muestran las matrices obtenidas y su capacidad de adsorción de QT bajo una misma condición de adsorción.

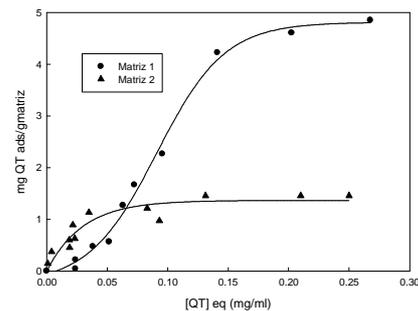
**Tabla 1.** Capacidad de adsorción de QT de las diferentes matrices obtenidas. Medio: Buffer Citrato 25 mM, pH 5,00.

Matriz	[Alginato] (%P/V)	[Goma Guar] (%P/V)	% QT adsorbida
1	0,2	0,5	60
2	0,6	0,5	42
4	1	0,5	13

A partir de los datos obtenidos se eligieron para continuar con el trabajo las matrices 1 y 2. Se determinaron las condiciones óptimas para la adsorción de la enzima. Se encontró que las variaciones de pH afectan notablemente el rendimiento de la adsorción y que la misma es óptima a pH 5,00. A su vez, se determinó que la presencia de sales en el medio disminuye la adsorción, avalando un posible mecanismo electrostático de interacción entre las matrices y la QT.

En cuanto a la cinética de la adsorción, para la matriz 1 se requieren de 45 min para llegar al equilibrio pero cuando se utiliza la matriz 2 basta con tan sólo 20 min. La figura 1 muestra las isotermas de adsorción. Puede verse que la isoterma obtenida al utilizar la matriz 1 presenta una forma sigmoidea con un máximo de adsorción de 6,97 mgQT/ g matriz. La isoterma obtenida con la matriz 2 ajusta a la isoterma de Langmuir con un máximo de 1,3 mgQT/g matriz.

**Figura 1.** Isoterma de adsorción de QT a 25°C. Medio: buffer citrato 25 mM, pH 5,00



**Conclusiones.** Durante este trabajo se prepararon diferentes matrices poliméricas y se encontraron las condiciones óptimas para el proceso de adsorción de QT sobre dos de ellas. Se encontró que el mejor rendimiento de la adsorción se da a pH 5,00 requiriendo de entre 20 y 45 min para completarse, dependiendo de la matriz utilizada. La capacidad máxima de adsorción de ambas matrices es elevada y existe la posibilidad de reutilizarlas. Las matrices mostraron su potencial capacidad para ser utilizadas en la purificación de QT a partir de su fuente natural.

**Agradecimientos.** Subsidiado por FonCyT –PICT 2012-428. BiValBi Biotechnologies to Valorise the regional food Biodiversity in Latin America, Marie Curie Actions.

### Bibliografía.

- Scopes, R.K. (1994). *Protein purification : principles and practice*. Scopes, R.K. Springer-Verlag, New York.
- Spelzini, D., B. Farruggia, and G. Picó. (2011). *Process Biochem.* 46(3): p. 801-805.
- Roy, I., M. Sardar, and M.N. Gupta. (2005). *Biochem Eng J.* 23(3): p. 193-198.