



Estabilidad y propiedades catalíticas de la cloroperoxidasa inmovilizada en materiales mesoporosos

Eduardo Torres, Marcela Ayala, Eduardo Terres, Jorge Aburto. Instituto Mexicano del Petróleo, fax 9175 8429, etorres@imp.mx

Palabras clave: inmovilización, estabilidad, SBA-15.

Introducción. El potencial de aplicación de la cloroperoxidasa (CPO) en la desulfurización oxidativa del diesel y la desmetalización de porfirinas las muestra como una enzima interesante para la industria petrolera (1). Con el propósito de mejorar la funcionalidad de la CPO, se procedió a inmovilizarla en materiales inorgánicos normalmente utilizados en la industria del petróleo como soportes de catalizadores.

Metodología. Con base en el tamaño molecular de la CPO ($53 \times 46 \times 60 \text{ \AA}$) se produjeron materiales tipo SBA16 con tamaño de poro de 40 y 90 \AA , para adsorberla en la superficie y en el interior del poro, respectivamente. Adicionalmente se inmovilizó covalentemente y de manera dirigida a las lisinas 112, 145 y 211, para evitar bloquear el sitio activo, utilizando el soporte de 90 \AA .

Resultados y discusión.

La CPO es retenida en el interior del poro del material tipo SBA16 de 90 \AA , mientras que en la superficie no es retenido (material de 40 \AA), mostrando actividad catalítica contra monoclorodimedona. La adición de cesio, que provee interacciones electrostáticas adicionales a las del material, mejora la carga de enzima inmovilizada (aun a pesar de reducir el tamaño de poro y el área superficial). Adicionalmente, el cesio mejora la actividad específica de las preparaciones por dos razones: una, el aumento en la carga de la enzima, y dos, probablemente debido a una mejor orientación del sitio activo hacia el sustrato (tabla 1).

Tabla 1. Propiedades catalíticas de la CPO inmovilizada y de los materiales sintetizados

Enzima	Poro (\AA)	Area (m^2/g)	Carga (nmol/g)	K_{cat} (min^{-1})	Actividad sp. ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)
SBA 40 \AA	41.2	926.9	0	0	0
SBA 90 \AA	91.0	545.2	23	1 195	27.5
SBA 40 Cs	30.1	412	59	5 300	312.7
SBA 90 Cs	65.8	369	50	2 500	125
SBA 90 covalente	32.3	604	147	1 522	223.7

Con este resultado se procedió a preparar un material que mejorará tanto la carga como la orientación del sitio activo. Para esto, se derivatizó el SBA 16 90 \AA con un espaciador terminado en carboxilo para unirlo a la proteína con carbodiimida. Como se muestra en la tabla, la actividad específica se incrementó 8 veces como resultado del incremento en la carga (6.4 veces) y por una probable mejor

orientación (aproximadamente 1.3 veces, reflejada por la k_{cat}).

Finalmente se determinó la estabilidad de las diferentes preparaciones a la urea. En la figura se muestra las actividades residuales después de una hora de incubación en urea. Como puede apreciarse, la inmovilización covalente muestra la mejor estabilidad a concentraciones de hasta 5 M de urea, donde la CPO nativa se desnaturaliza.

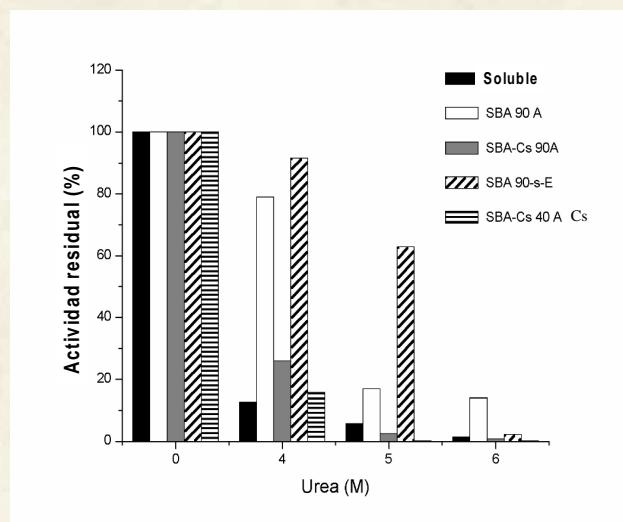


Fig. 1. Estabilidad de las diferentes preparaciones de CPO a la urea

Conclusiones. Las preparaciones de CPO en materiales mesoporosos propiedades catalíticas que pueden ser manipuladas con el tamaño de poro y la orientación de la enzima en el soporte.

Agradecimientos
IMP D.00293

Bibliografía.

- Vazquez-Duhalt, R.; Torres, E.; Valderrama, B.; Le Borgne, S. (2002). Will biochemical catalysis impact the petroleum refining industry? *Energy and Fuels* 16:1239-1250
- Aburto, J.; Ayala, m.; Bustos, I.; Terres, E.; Domínguez, J.M.; Torres, E. (2005). Stability and catalytic properties of chloroperoxidase immobilized on mesoporous materials. *Micropor. Mesopor. Mat.* En prensa.