

CONJUGADOS BIOCATALITICOS BASADOS EN QUITOSANO

Gabriela Mortera Domínguez* y Rafael Vázquez Duhalt
Instituto de Biotecnología-UNAM. Av Universidad 2001 Col. Chamilpa C.P. 62210
Cuernavaca, Morelos. México. Fax: 01 (777) 317-23-88
* e-mail: gaby@ibt.unam.mx

Palabras clave: quitosano, lacasa, polietilenglicol

Introducción. En la actualidad la industria se ha esforzado por tener procesos energéticamente económicos y ambientalmente amigables. Una opción para esta problemática es la biocatálisis. En los últimos años, se ha observado un incremento en la utilización de enzimas inmovilizadas para catálisis en diferentes procesos de la industria. Las enzimas pueden ser atrapadas o incorporadas covalentemente en polímeros, para utilizarlos en catálisis selectivas y así formar materiales biológicamente activos que sean estables y capaces de actuar en ambientes extremos.

En el presente trabajo se utilizó como polímero modelo el quitosano. Está constituido por residuos de glucosamina y la característica más importante del quitosano es su funcionalidad amino, ya que son nucleofílicos y reactivos a pH altos, y es en este grupo amino donde se puede llevar a cabo la inmovilización de enzimas. La enzima utilizada es la lacasa purificada del hongo ligninolítico *C. gallica*, la cuál tiene aplicaciones potenciales en la descontaminación de sistemas que contienen fenoles, en el tratamiento de efluentes de la industria textil y para oxidar hidrocarburos aromáticos (1). Debido a que los hidrocarburos aromáticos (sustratos para esta enzima) son solubles en solvente orgánico, se propone la modificación hidrofóbica del conjugado quitosano-lacasa para tener al sistema en una sola fase y mejorar la catálisis.

Metodología. El conjugado QL (quitosano-lacasa) se realizó mediante la unión covalente de lacasa purificada del hongo *C. gallica* (11U) a quitosano 2.09%. Posteriormente se realizó la modificación hidrofóbica mediante la adición de polietilenglicol activado con cloruro cianúrico sobre el conjugado QL. Se caracterizaron física y cinéticamente a la enzima libre y a los conjugados QL y QLP mediante perfiles de actividad y estabilidad a pH, temperatura, concentración de solvente orgánico y diferentes a_w .

Resultados y discusión. La inmovilización de la enzima lacasa, se llevó a cabo mediante química de carbodimida, la cuál activa a los grupos carboxilos de la enzima, para que se puedan unir covalentemente con los grupos aminos del quitosano. Se determinó que aproximadamente un 41% de enzima se inmovilizó en el quitosano. Posteriormente el conjugado QL se modificó hidrofóbicamente con PEG (polietilenglicol) activado con cloruro cianúrico con una relación en peso 1:2, de esta forma se obtuvo el conjugado QLP.

En cuanto a la estabilidad a pH extremos se encontró que la enzima libre a pH 1 se desactiva a los 40 min, mientras que el conjugado QL retuvo un 30% de actividad y cuando se

modificó hidrofóbicamente se duplicó su estabilidad aproximadamente un 60% de la actividad inicial. De forma similar a pH 12 el conjugado QLP presentó una mayor estabilidad en comparación al conjugado QL y a la enzima libre. Posiblemente esto puede ser debido a que la enzima al ser inmovilizada sobre el quitosano le este confiriendo cierta protección sobre los grupos susceptibles a ser ionizados, y que el conjugado QLP al contar con las moléculas de PEG, le provean de una mayor protección, reflejándose en un ligero aumento de estabilidad en comparación con la enzima libre.

Como se muestra en la figura 1, se comparó la actividad de la enzima libre sobre el conjugado QL con etanol (EtOH), isopropanol (ISO), butanol (ButOH) y tert-butanol (Tert-ButOH) con a_w entre 0.70 y 0.84, encontrando que el conjugado es más activo que la enzima libre.

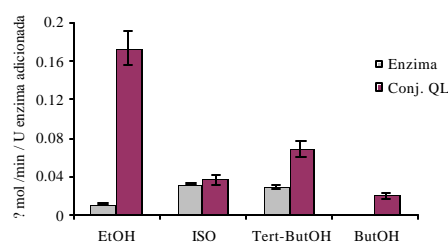


Fig 1. Actividad de enzima y conjugado QL en solvente orgánico con a_w entre 0.70 y 0.84.

Conclusiones. Se logró producir un conjugado quitosano lacasa inmovilizando un 41 % de enzima con las condiciones establecidas de temperatura y carbodimida. La inmovilización de la enzima en el quitosano le provee cierta protección a pH extremos (1 y 12) y el modificar hidrofóbicamente el conjugado QL incrementa aún más la estabilidad en comparación con la enzima libre y el conjugado QL. El conjugado QL presentó una mayor actividad en solventes orgánicos con a_w de 0.70-0.84 en comparación con la enzima libre, sin embargo el modificar hidrofóbicamente el conjugado QL revierte este efecto de aumento en la actividad.

Agradecimiento. A la Biol. Rosa Román y al M. en B. Raunel Tinoco por su asistencia técnica.

Bibliografía.

1. Pickard, M.A., Roman, R., Tinoco, R., Vazquez-Duhalt, R. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism by white rot fungi and oxidation by *Coriopsis gallica* UAMH 8260 lacasse. *Appl Environ Microbiol.* 65: 3805-3809.