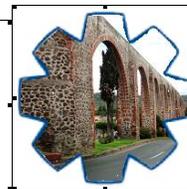


# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## INMOVILIZACION DE LIPASA EN NANOMATERIALES CERAMICOS DE POLITITANATOS DE POTASIO

Orlando U. Reyna-Fernández, Miguel A. Aguilar González, Erika Flores Loyola, José L. Martínez-Hernández, Anna Iliina. Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Torreón. CINVESTAV-Salttillo.

e-mail: jose-martinez@uadec.edu.mx

Palabras clave: inmovilización, lipasa, polititanatos de potasio.

**Introducción.** La lipasa (EC 3.1.1.3) es una enzima de alto interés biotecnológico en la industria de los alimentos, limpieza, farmacéutica y cosmética. La aplicación de enzima en un sistema inmovilizado es a menudo económicamente más factible que en forma libre (1). El uso de los nanomateriales como soportes ha sido un gran objeto de estudio. El presente trabajo se enfoca en los nanomateriales cerámicos constituidos de polititanatos de potasio (PTP), obtenidos mediante la ruta de sales fundidas ( $\Delta$  TiO<sub>2</sub>, KOH y KNO<sub>3</sub>). Son de bajo costo, de fácil manejo y no representan riesgos para la salud (2). El tratamiento térmico de materias primas a altas temperaturas permite la formación de hexatitanato (K<sub>2</sub>Ti<sub>6</sub>O<sub>13</sub>) y tetratitanato (K<sub>2</sub>Ti<sub>4</sub>O<sub>9</sub>), brindando controladas propiedades mecánicas y capacidad de adsorción, respectivamente (2).

El objetivo del presente estudio es evaluar los PTP como soporte para la inmovilización de la enzima lipasa.

**Metodología.** Se utilizaron 2 tipos de PTP: A, - obtenido a 900°C y B, - obtenido a 600°C, los cuales fueron sintetizados en el CINVESTAV - Unidad Saltillo.

**Silanización y análisis FT-IR.** La silanización se realizó siguiendo la técnica descrita por Halliwell *et al.* (3). Posteriormente se hizo el análisis FT-IR (Nicolet IR100 FT-IR Thermo Scientific). **Activación de soporte con aldehído glutárico** se realizó mediante la técnica descrita por Segura *et al.* (4). **Inmovilización de lipasa** se llevó a cabo empleando los PTP A y B sin y con silanización, así como sin y con activación química empleando una solución de lipasa (SIGMA) a 0.5 mg/mL, bajo agitación a 240 rpm a 4°C. Espectrofotométricamente se determinó la cantidad de proteínas y actividad enzimática a los 10 min y hasta las 12 h. Mediante SEM (Philips XL30 ESEM) se realizó un estudio de la superficie de los PTP A y B antes y después de los tratamientos.

**Resultados.** El análisis IR comprobó la incorporación del grupo amino con picos característicos en la región de 3000-2800 cm<sup>-1</sup> y el grupo silano en la región 1080 cm<sup>-1</sup> en los PTP sometidos al proceso de silanización. La Fig. 1 muestra la estructura de los PTP observándose un cambio en la luminosidad superficial, que indica una modificación por el silano. La Fig. 2 demuestra el porcentaje de proteína inmovilizada en los PTP A y B antes y después de tratamientos efectuados. Se aprecia que se alcanza inmovilizar alrededor de 60-70 % de la proteína por adsorción en soportes no tratados. El aumento de tiempo de contacto entre soporte y enzima

no conduce a incremento en el porcentaje de inmovilización.

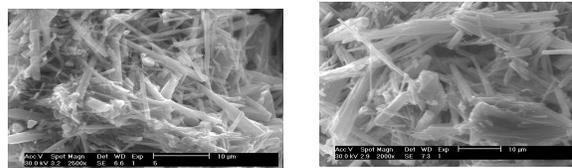


Fig. 1 Microfotografías del PTP A: sin silanizar (izquierda) y silanizado (derecha).

El mayor porcentaje (Fig. 2), así como mayor actividad, se observó en el caso de preparado de lipasa inmovilizada en PTP B silanizado. Sin embargo, se demostró que los preparados de la lipasa inmovilizada por interacciones físicas tanto en PTP A como en PTP B se caracterizan por una pérdida de actividad después del segundo ciclo de uso debido al proceso de desorción. La inmovilización química por medio de reacción con el aldehído glutárico conduce a un ligero decremento en eficiencia de la inmovilización, dando como ventaja una mayor estabilidad operacional en términos de ciclos de uso repetido.

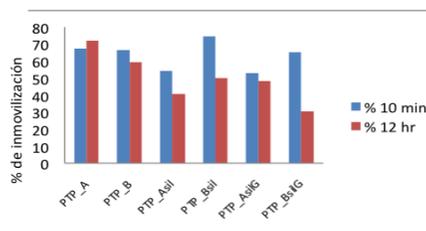


Fig. 2. Porcentaje inmovilización (eje de ordenada) de la enzima lipasa a los 10 min (azul) y a las 12 h (rojo) en polititanatos (PTP\_A y PTP\_B) antes y después de silanización (PTP\_Asil y PTP\_Bsil), así como después de tratamiento con aldehído glutárico (PTP\_AsilG y PTP\_BsilG).

**Conclusiones.** Se demostró la posibilidad de emplear los PTP como soporte para la inmovilización de la enzima lipasa con perspectiva para su aplicación en procesos industriales.

### Bibliografía.

1. Dandavate V., Madamwar D. (2008) *Microbiol. Biotechnol.* April 18 (4):735-41.
2. Aguilar-González M. A., Gorokhovskiy A., Aguilar-Elguezabal A., Escalante-García J.I. (2008) *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidrio.* 4 (1) 29-34.
3. Halliwell C. M., Cass A. E. (2001). *Anal. Chem.* 73 (17): 2476-2483.
4. Segura-Ceniceros E.P. *et al.* (2006). *Act. de Ciencia y Tecnología U.A.de C.* 1 (2): 22-32