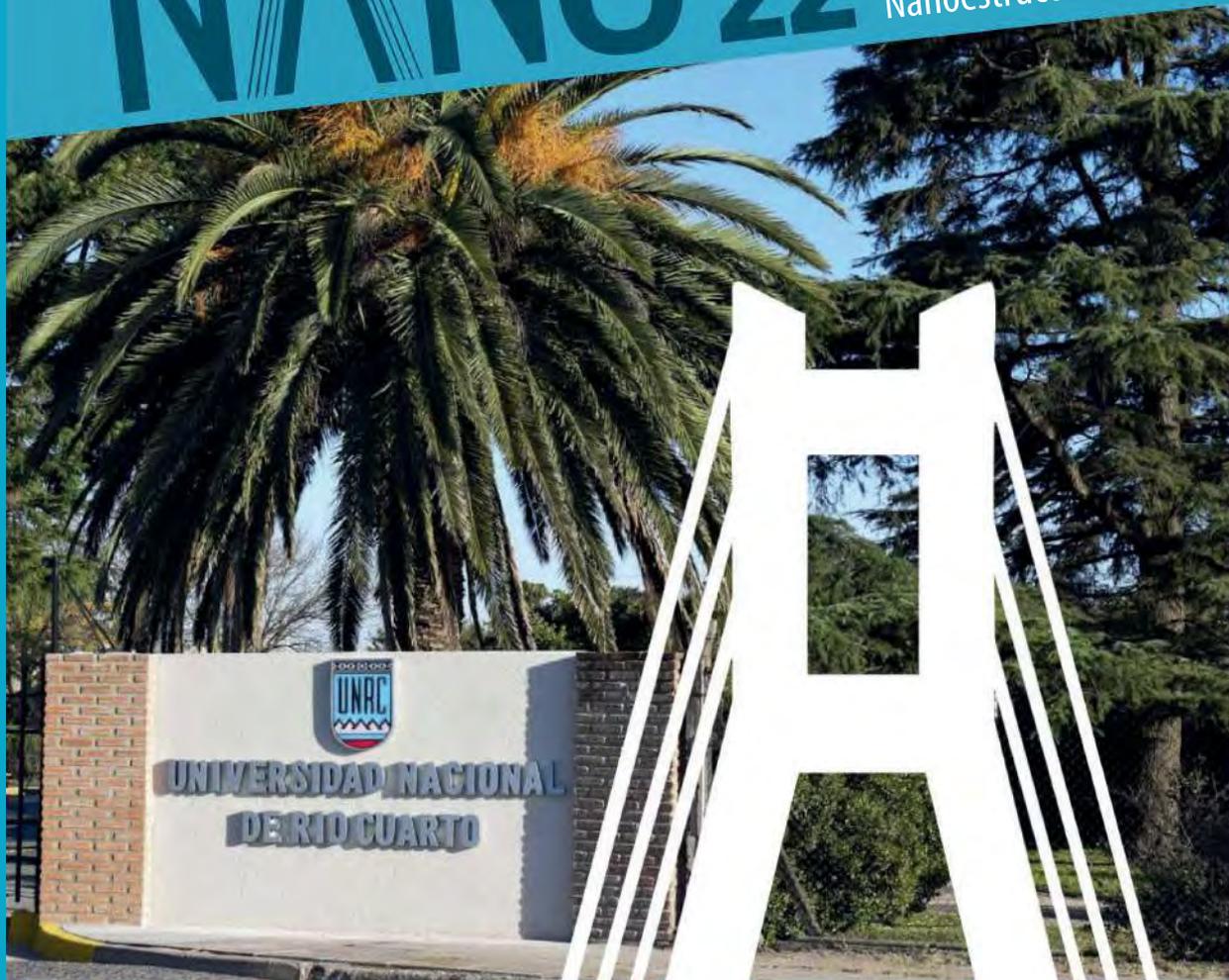


# Nanociencia y Nanotecnología

# NANO<sup>20</sup><sub>22</sub>

XXI Encuentro de  
Superficies y Materiales  
Nanoestructurados



*Claudia Solis, Luis Ibarra y  
Melisa Renfige Rodríguez*  
Compiladores

**9 al 11 de Agosto de 2022**  
Río Cuarto, Córdoba  
*Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales*  
Universidad Nacional de Río Cuarto

ISBN 978-987-688-507-2

e-book

**UniRío**  
editora

## Interacciones hidrofóbicas en el proceso de inmovilización por adsorción de una lipasa sobre nanopartículas de Ca<sub>2</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

**Morales, Andrés Hernán**<sup>(1)\*</sup>; **Hero, Johan Sebastian**<sup>(1)</sup>; **Ledesma, Ana Estela**<sup>(2,3)</sup>; **Navarro, María Carolina**<sup>(4)</sup>; **Gómez, María Inés**<sup>(4)</sup>; **Martínez, María Alejandra**<sup>(1,5)</sup>; **Romero, Cintia Mariana**<sup>(1,4)</sup>

<sup>(1)</sup> Planta Piloto Proceso Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), Av. Belgrano y Pje. Caseros (4000), Tucumán, Argentina.

<sup>(2)</sup> Centro de Investigación en Biofísica Aplicada y Alimentos (CIBAAL-UNSE-CONICET), RN 9 – Km 1125 (4206), Santiago del Estero, Argentina.

<sup>(3)</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Tecnológicas (UNSE). Av. Belgrano Sur 1912 (4200), Santiago del Estero, Argentina.

<sup>(4)</sup> Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia (UNT). Ayacucho 461, San Miguel de Tucumán, Argentina.

<sup>(5)</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Tecnológicas (UNT). Av. Independencia 1800, San Miguel de Tucumán, Argentina.

\*correo electrónico: [andymorales\\_2006@hotmail.com](mailto:andymorales_2006@hotmail.com)

La inmovilización de enzimas en soportes sólidos permite que estos catalizadores altamente costosos puedan ser reutilizados con facilidad, razón de su creciente interés en diferentes aplicaciones. No obstante, la interfaz sólido-líquido donde se inmoviliza la enzima puede afectar profundamente su estructura, conduciendo a mejorar su estabilidad o bien a una pérdida de actividad [1]. En este sentido, el empleo de técnicas experimentales que provean diferentes tipos de información suele ser necesaria para tener una idea detallada de la interacción proteína-soporte y así poder ajustar las condiciones para mantener o mejorar la capacidad catalítica y estabilidad de la enzima [2]. En particular, en la inmovilización de lipasas las interacciones hidrofóbicas cobran relevancia dado que estas enzimas pueden reconocer superficies con una naturaleza química similar a sus sustratos naturales y sufren así un fenómeno de activación interfacial durante su inmovilización [3]. El objetivo del presente estudio radicó en evaluar la ocurrencia de interacciones hidrofóbicas durante la adsorción de una lipasa de *Candida rugosa* sobre nanopartículas de Ca<sub>2</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Este trabajo se desarrolló sobre la base de una metodología superficie de respuesta empleando un diseño estadístico del tipo central compuesto. Se estudió el efecto del pH y la fuerza iónica sobre tres respuestas: proteína inmovilizada (**PI**), actividad hidrolítica (**AH**) y energía libre de Gibbs (**ΔG**). El análisis de los datos obtenidos mostró que los mayores valores de **PI** y **AH** se registraron a un pH de entre 3 y 4. Además, en estas condiciones ácidas, mayores valores de fuerza iónica (> 150 mM) mejoraban la cantidad de **PI**, mientras que los mayores registros de **AH** se encontraron a bajas fuerzas iónicas (< 50 mM). Se determinó la hidrofobicidad relativa superficial del óxido en función de la adsorción de Rosa de Bengala, el cual fue capaz de retener un 88% del colorante, sugiriendo un elevado carácter hidrofóbico. Por otra parte, se registraron valores de **ΔG** de entre -10 y -20 kJ/mol en torno a los diferentes equilibrios de adsorción ensayados, los cuales sugieren que el proceso de unión de la proteína al soporte se produjo a través de interacciones físicas.

El análisis por espectroscopia Raman permitió corroborar la unión de la proteína al soporte observando además la desaparición de picos ubicados a los 1031 cm<sup>-1</sup> y 971 cm<sup>-1</sup> presentes en la lipasa, tras el proceso de inmovilización. Estas señales están asociados a modos vibracionales de los residuos de aminoácidos como la fenilalanina y leucina respectivamente, ambos de naturaleza no polar. La ausencia de estos picos en los biocatalizadores inmovilizados podría sugerir que los mismos están involucrados en la unión. El análisis *in silico* por acoplamiento molecular mostró como el óxido mixto interacciona con la lipasa en las cercanías del capuchón que protege el sitio activo de la enzima y numerosos aminoácidos hidrofóbicos estarían involucrados en la unión, generando así una posible activación interfacial.

### REFERENCIAS

1. M. Hoaraou, S. Badiéyan and E. N. G. Marsh, *Org. Biomol. Chem.* **15** (2017) 9539.
2. R. C. Rodrigues, J. J. Virgen-Ortíz, J. C. S. dos Santos, A. Berenguer-Murcia, A. R. Alcántara, O. Barbosa, C. Ortiz and R. Fernandez-Lafuente, *Biotech. Adv.* **37** (2019) 749-770.
3. A. R. Ismail and K. Baek, *Int. J. Biol. Macromol.* **163** (2020) 1624-1639.